

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-518282

(P2022-518282A)

(43)公表日 令和4年3月14日(2022.3.14)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 B 0 6 4
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	Z N A 4 C 0 8 5
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	4 H 0 4 5
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	C 1 2 P 21/02	C

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全53頁) 最終頁に続く

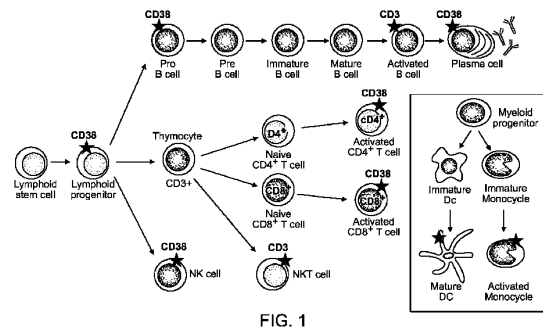
(21)出願番号 特願2021-543170(P2021-543170)
 (86)(22)出願日 令和2年1月23日(2020.1.23)
 (85)翻訳文提出日 令和3年7月26日(2021.7.26)
 (86)国際出願番号 PCT/US2020/014845
 (87)国際公開番号 WO2020/154540
 (87)国際公開日 令和2年7月30日(2020.7.30)
 (31)優先権主張番号 62/795,855
 (32)優先日 平成31年1月23日(2019.1.23)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)
 (81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
 ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(
 AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A
 T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR
 ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
 最終頁に続く

(71)出願人 500287639
 ミレニアム ファーマシューティカルズ,
 インコーポレイテッド
 MILLENNIUM PHARMAC
 EUTICALS, INC.
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
 1 3 9 , ケンブリッジ,ランズダウン
 ストリート 4 0
 (74)代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74)代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏
 (74)代理人 100181641
 弁理士 石川 大輔
 (74)代理人 230113332
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗CD38結合ドメイン

(57)【要約】

本開示では、抗CD38結合ドメイン、抗CD38結合ドメインを含む組成物、抗CD38結合ドメインをコードする核酸、及び多発性骨髄腫を治療するための抗CD38結合ドメインまたは組成物の使用方法が提供される。一態様では、組成物は、抗CD38抗原結合ドメインを含み、この抗CD38抗原結合ドメインは、配列番号2のアミノ酸配列を有するVHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するVHCDR2、及び配列番号4のアミノ酸配列を有するVHCDR3を含む可変重ドメイン(VH)と、配列番号6のアミノ酸配列を有するVLCDR1、配列番号7のアミノ酸配列を有するVLCDR2、及び配列番号8のアミノ酸配列を有するVLCDR3を含む可変軽ドメイン(VL)と、を含む。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- a) 以下を含む可変重ドメイン (VH) :
- i) 配列番号 2 の配列を含む VHCDR1、
 - ii) 配列番号 3 の配列を含む VHCDR2、及び
 - iii) 配列番号 4 の配列を含む VHCDR3 と、
- b) 以下を含む可変軽ドメイン (VL) :
- i) 配列番号 6 の配列を含む VLCDR1、
 - ii) 配列番号 7 の配列を含む VLCDR2、及び
 - iii) 配列番号 8 の配列を含む VLCDR3 と
- を含む、抗 CD38 抗原結合ドメインを含む、組成物。

10

【請求項 2】

前記 VH が配列番号 1 の配列を含み、前記 VL が配列番号 25 の配列を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記 VH が配列番号 1 の配列を含み、前記 VL が配列番号 5 の配列を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

- a) 以下を含む可変重ドメイン (VH) :
- i) 配列番号 10 の配列を含む VHCDR1、
 - ii) 配列番号 11 の配列を含む VHCDR2、及び
 - iii) 配列番号 12 の配列を含む VHCDR3 と、
- b) 以下を含む可変軽ドメイン (VL) :
- i) 配列番号 14 の配列を含む VLCDR1、
 - ii) 配列番号 15 の配列を含む VLCDR2、及び
 - iii) 配列番号 16 の配列を含む VLCDR3 と
- を含む、抗 CD38 抗原結合ドメインを含む組成物。

20

【請求項 5】

前記 VH が配列番号 9 の配列を含み、前記 VL が配列番号 13 の配列を含む、請求項 4 に記載の組成物。

30

【請求項 6】

- a) 以下を含む可変重ドメイン (VH) :
- i) 配列番号 18 の配列を含む VHCDR1、
 - ii) 配列番号 19 の配列を含む VHCDR2、及び
 - iii) 配列番号 20 の配列を含む VHCDR3 と、
- b) 以下を含む可変軽ドメイン (VL) :
- i) 配列番号 22 の配列を含む VLCDR1、
 - ii) 配列番号 23 の配列を含む VLCDR2、及び
 - iii) 配列番号 24 の配列を含む VLCDR3 と
- を含む、抗 CD38 抗原結合ドメインを含む組成物。

40

【請求項 7】

前記 VH が配列番号 17 の配列を含み、前記 VL が配列番号 21 の配列を含む、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

- a) 以下を含む可変重ドメイン (VH) :
- i) 配列番号 54 の配列を含む VHCDR1、
 - ii) 配列番号 55 の配列を含む VHCDR2、及び
 - iii) 配列番号 56 の配列を含む VHCDR3 と、
- b) 以下を含む可変軽ドメイン (VL) :
- i) 配列番号 58 の配列を含む VLCDR1、

50

i i) 配列番号 59 の配列を含む V L C D R 2、及び
 i i i) 配列番号 60 の配列を含む V L C D R 3 と
 を含む抗 C D 3 8 抗原結合ドメインを含む組成物。

【請求項 9】

前記 V H が配列番号 53 の配列を含み、前記 V L が配列番号 57 の配列を含む、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記 V H 及び前記 V L が単一のポリペプチド中にある、先行請求項のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記ポリペプチドが、s c F v リンカーを含み、前記ポリペプチドが、V H - s c F v リンカー - V L の N 末端から C 末端への配向を有する、請求項 10 に記載の組成物。

【請求項 12】

前記ポリペプチドが、s c F v リンカーを含み、前記ポリペプチドが、V L - s c F v リンカー - V H の N 末端から C 末端への配向を有する、請求項 10 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記組成物が、前記 V H を含む第 1 のポリペプチドと、前記 V L を含む第 2 のポリペプチドとを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 14】

前記組成物が、

- a) 前記 V H を含む重鎖と、
- b) 前記 V L を含む軽鎖と

を含む抗体である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 15】

前記重鎖が、前記可変重ドメインと、ヒト I g G 1、I g G 2 及び I g G 4、またはそれらの変異体に由来する重定常ドメインからなる群から選択される重定常ドメインとを含む、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記重定常ドメインが、前記ヒト I g G 1 の重定常ドメインである、請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

前記重定常ドメインが、前記ヒト I g G 1 の重定常ドメインの変異体である、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

前記ヒト I g G 1 の重定常ドメインの変異体が、F c R 結合が切除されている、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記重定常ドメインが、ヒト I g G 4 の野生型重定常ドメインと比較して S 2 2 8 P アミノ酸置換を含む、前記ヒト I g G 4 の重定常ドメインの変異体である、請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 20】

- a) 第 1 のポリペプチドをコードする第 1 の核酸と、
 - b) 第 2 のポリペプチドをコードする第 2 の核酸とを含む、
- 請求項 15 に記載の前記組成物をコードする核酸組成物。

【請求項 21】

請求項 10 に記載の前記組成物をコードする核酸を含む核酸組成物。

【請求項 22】

請求項 21 に記載の前記核酸を含む、発現ベクター組成物。

【請求項 23】

請求項 20 に記載の前記第 1 の核酸及び前記第 2 の核酸を含む、発現ベクター組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 24】

a) 請求項 20 に記載の前記第 1 の核酸を含む第 1 の発現ベクターと、
 a) 請求項 20 に記載の前記第 2 の核酸を含む第 2 の発現ベクターと
 を含む発現ベクター組成物。

【請求項 25】

請求項 22 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の前記発現ベクター組成物を含む、宿主細胞。

【請求項 26】

抗 CD38 抗原結合ドメインを含む組成物を作製する方法であって、
 請求項 25 に記載の前記宿主細胞を、前記抗 CD38 抗原結合ドメインを含む組成物が発
 現される条件下で培養すること、及び
 前記組成物を回収すること
 を含む、前記方法。

10

【請求項 27】

有効量の請求項 1 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の前記組成物を、多発性骨髄腫の治療を必
 要とする対象に投与することを含む、前記多発性骨髄腫の治療方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

I . 関連出願の相互参照

本出願は、2019年1月23日出願の米国仮出願第 62/795,855 号の優先権を
 米国特許法第 119 条の下で主張し、当該文献の内容は、その全体が参照によって明確に
 組み込まれる。

20

【0002】

II . コンパクトディスクで提出される添付の「配列表」、表、またはコンピュータープ
 ログラムの参照

101588-5011-WO_ST25.txt と題する 76 キロバイトサイズの配列
 表テキストコピー (2020年1月21日作成) が本明細書と共に提出され、当該配列表
 テキストコピーは、参照によって本発明に組み込まれる。

【背景技術】

【0003】

III . 発明の背景

CD38 は、長い C 末端細胞外ドメイン及び短い N 末端細胞質ドメインを有する II 型の
 膜貫通型糖タンパク質であり、サイクリック ADP リボースヒドロラーゼとしても知られ
 ている。CD38 は、関連する膜結合型酵素または可溶性酵素の一群 (CD157 及びア
 メフラシの ADPR シクラーゼを含む) のメンバーである。このファミリーの酵素は、N
 AD をサイクリック ADP リボースまたはニコチン酸アデニンジヌクオチドリン酸に変換
 する特有の能力を有する。

30

【0004】

さらに、CD38 は、Ca²⁺ 動員に関与すると共に、ホスホリパーゼ C、ZAP-70、
 syk、及び c-cbl を含む、多数のシグナル伝達分子のチロシンリン酸化を生じ
 させることで、シグナル伝達にも関与することが報告されている。こうした知見に基づい
 て、CD38 が、リンパ球系細胞の通常発生の間にそうした細胞が成熟及び活性化する上
 で重要なシグナル伝達分子であることが提唱された。

40

【0005】

CD38 は、B 細胞、形質細胞、CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、NK 細胞、NKT 細
 胞、成熟樹状細胞 (DC)、及び活性化単球を含めて、多くの免疫細胞の表面に発現する
 ことが明らかになっている。造血細胞では、CD38 は、リンパ球増殖、サイトカイン放
 出、B 細胞及び骨髄系細胞の発生及び生存の制御、ならびに樹状細胞の成熟誘導などの機
 能的な作用に関与することが明らかとなっている (図 1)。

【0006】

50

CD38の推定天然リガンドはCD31(PECAM-1;血小板内皮細胞接着分子-1)であり、CD31は、循環する血小板、好中球、単球、及びナイーブBリンパ球の表面に発現する免疫グロブリンスーパーファミリーの130kDのメンバーである。機能的には、CD31は、接着分子として働くと考えられており、CD38がCD31と相互作用すると、白血病細胞の生存促進作用が生じ得る。

【0007】

非ホジキンリンパ腫(NHL)、パーキットリンパ腫(BL)、多発性骨髄腫(MM)、B慢性リンパ球性白血病(B-CLL)、B細胞性及びT細胞性の急性リンパ性白血病(ALL)、T細胞リンパ腫(TCL)、急性骨髄性白血病(AML)、ヘアリー細胞白血病(HCL)、ホジキンリンパ腫(HL)、及び慢性骨髄性白血病(CML)を含めて、造血器悪性腫瘍の多く、及びさまざまな造血器悪性腫瘍に由来する細胞株では、CD38が上方制御される。したがって、CD38は、白血病の予後マーカーとして使用されている。

10

【0008】

最近では抗がん剤の発見及び開発に進展が見られるものの、CD38発現腫瘍を伴う多くの形態のがんでは、その予後は依然として不良である。したがって、そのような形態のがんを治療するための改良方法が必要されていると共に、市場には抗体が存在するものの、特徴が改善された抗CD38抗体を開発することが必要とされている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

20

【0009】

IV. 発明の簡単な概要

本発明は、新規の抗CD38抗原結合ドメインを含む組成物に関する。

【0010】

一態様では、組成物は、抗CD38抗原結合ドメインを含み、この抗CD38抗原結合ドメインは、配列番号2のアミノ酸配列を有するvhCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するvhCDR2、及び配列番号4のアミノ酸配列を有するvhCDR3を含む可変重ドメイン(VH)と、配列番号6のアミノ酸配列を有するvlCDR1、配列番号7のアミノ酸配列を有するvlCDR2、及び配列番号8のアミノ酸配列を有するvlCDR3を含む可変軽ドメイン(VL)と、を含む。

30

【0011】

いくつかの実施形態では、当該組成物は、抗CD38抗原結合ドメインを含み、この抗CD38抗原結合ドメインは、配列番号1と同一のアミノ酸配列を有する可変重ドメインと、配列番号5と同一のアミノ酸配列を有する可変軽ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、当該組成物は、抗CD38抗原結合ドメインを含み、この抗CD38抗原結合ドメインは、配列番号1と同一のアミノ酸配列を有する可変重ドメインと、配列番号25と同一のアミノ酸配列を有する可変軽ドメインと、を含む。

【0012】

別の態様では、組成物は、抗CD38抗原結合ドメインを含み、この抗CD38抗原結合ドメインは、配列番号10のアミノ酸配列を有するvhCDR1、配列番号11のアミノ酸配列を有するvhCDR2、及び配列番号12のアミノ酸配列を有するvhCDR3を含む可変重ドメイン(VH)と、配列番号14のアミノ酸配列を有するvlCDR1、配列番号15のアミノ酸配列を有するvlCDR2、及び配列番号16のアミノ酸配列を有するvlCDR3を含む可変軽ドメイン(VL)と、を含む。

40

【0013】

いくつかの実施形態では、当該組成物は、抗CD38抗原結合ドメインを含み、この抗CD38抗原結合ドメインは、配列番号9と同一のアミノ酸配列を有する可変重ドメインと、配列番号13と同一のアミノ酸配列を有する可変軽ドメインと、を含む。

【0014】

別の態様では、組成物は、抗CD38抗原結合ドメインを含み、この抗CD38抗原結合

50

ドメインは、配列番号 18 のアミノ酸配列を有する v h C D R 1、配列番号 19 のアミノ酸配列を有する v h C D R 2、及び配列番号 20 のアミノ酸配列を有する v h C D R 3 を含む可変重ドメイン (V H) と、配列番号 22 のアミノ酸配列を有する v l C D R 1、配列番号 23 のアミノ酸配列を有する v l C D R 2、及び配列番号 24 のアミノ酸配列を有する v l C D R 3 を含む可変軽ドメイン (V L) と、を含む。

【 0 0 1 5 】

いくつかの実施形態では、当該組成物は、抗 C D 3 8 抗原結合ドメインを含み、この抗 C D 3 8 抗原結合ドメインは、配列番号 17 と同一のアミノ酸配列を有する可変重ドメインと、配列番号 21 と同一のアミノ酸配列を有する可変軽ドメインと、を含む。

【 0 0 1 6 】

別の態様では、組成物は、抗 C D 3 8 抗原結合ドメインを含み、この抗 C D 3 8 抗原結合ドメインは、配列番号 54 のアミノ酸配列を有する v h C D R 1、配列番号 55 のアミノ酸配列を有する v h C D R 2、及び配列番号 56 のアミノ酸配列を有する v h C D R 3 を含む可変重ドメイン (V H) と、配列番号 58 のアミノ酸配列を有する v l C D R 1、配列番号 59 のアミノ酸配列を有する v l C D R 2、及び配列番号 60 のアミノ酸配列を有する v l C D R 3 を含む可変軽ドメイン (V L) と、を含む。

【 0 0 1 7 】

いくつかの実施形態では、当該組成物は、抗 C D 3 8 抗原結合ドメインを含み、この抗 C D 3 8 抗原結合ドメインは、配列番号 53 と同一のアミノ酸配列を有する可変重ドメインと、配列番号 57 と同一のアミノ酸配列を有する可変軽ドメインと、を含む。

【 0 0 1 8 】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 C D 3 8 抗原結合ドメインを含む当該組成物は、可変重ドメイン及び可変軽ドメインを単一のポリペプチド上に含む。いくつかの実施形態では、単一のポリペプチドは、s c F v リンカー、可変重ドメイン、及び可変軽ドメインを、V H - s c F v リンカー - V L または V L - s c F v リンカー - V H という N 末端から C 末端への配向で含む。

【 0 0 1 9 】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 C D 3 8 抗原結合ドメインを含む当該組成物は、可変重ドメインを含む第 1 のポリペプチドと、可変軽ドメインを含む第 2 のポリペプチドと、を含む。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 C D 3 8 抗原結合ドメインを含む当該組成物は抗体であり、この抗体は、可変重ドメインを含む重鎖と、可変軽ドメインを含む軽鎖と、を含む。いくつかの実施形態では、当該抗体は重鎖を含み、この重鎖は、可変重ドメイン、ならびにヒトの I g G 1、I g G 2、及び I g G 4、ならびにそれらの変異体の重定常ドメインから選択される重定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、当該抗体は重鎖を含み、この重鎖は、可変重ドメインと、ヒト I g G 1 またはその変異体の重定常ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、当該抗体は重鎖を含み、この重鎖は、可変重ドメインと、Fc R 結合が切除されたヒト I g G 1 変異体の重定常ドメインから選択される重定常ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、当該抗体は重鎖を含み、この重鎖は、可変重ドメインと、S 2 2 8 P アミノ酸置換を有するヒト I g G 4 変異体の重定常ドメインから選択される重定常ドメインと、を含む。

【 0 0 2 1 】

本発明は、可変重ドメイン及び可変軽ドメインをコードする核酸組成物にも関する。いくつかの実施形態では、当該核酸組成物は、可変重ドメインをコードする第 1 の核酸と、可変重ドメインをコードする第 2 の核酸と、を含む。いくつかの実施形態では、当該核酸組成物は、可変重ドメイン及び可変軽ドメインをコードする単一の核酸を含む。

【 0 0 2 2 】

本発明の別の態様は、本明細書に記載の核酸組成物のいずれか 1 つを含む発現ベクター組成物と、本明細書に記載の当該発現ベクター組成物のいずれか 1 つを含む宿主細胞と、に

10

20

30

40

50

関する。いくつかの実施形態では、当該発現ベクター組成物は、当該第1の核酸を含む第1の発現ベクターと、本明細書に記載の当該第2の核酸を含む第2の発現ベクターと、を含む。いくつかの実施形態では、当該発現ベクター組成物は、可変重ドメイン及び可変軽ドメインをコードする単一の核酸を含む当該核酸組成物を含む。

【0023】

本発明は、本明細書に記載の抗CD38抗原結合ドメインを含む当該組成物のいずれかを作製する方法にさらに関する。この方法は、抗CD38抗原結合ドメインが発現する条件の下で当該宿主細胞を培養すること、及び当該組成物を回収すること、を含む。

【0024】

本明細書に記載の抗CD38抗原結合ドメインを含む当該組成物のいずれかを有効量で使用して多発性骨髄腫を治療する方法も本発明に含まれる。

10

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1】リンパ球系細胞上のCD38発現プロファイルを示しており、星は、高いCD38発現を示している。CD38発現は、プロB細胞(CD34+CD19+CD20-)、活性化B細胞(CD19+CD20+)、血漿細胞(CD138+CD19-CD20-)、活性化CD4+及びCD8+T細胞、NKT細胞(CD3+CD56+)及びNK細胞(CD56+CD16+)で同定されている。また、CD38発現は、リンパ球前駆細胞(CD34+CD45RA+CD10+CD19-)で見られるが、リンパ球幹細胞では見られない。また、CD38発現の増加は、成熟DC及び活性化単球で見られる。

20

【図2】ELISAアッセイによる精製されたヒトCD38への抗CD38結合クローンの結合を示している。各抗CD38結合クローンは、scFvにフォーマット化され、次いで志賀毒素Aサブユニットに融合された(scFv-SLTA融合フォーマット)。

【図3】ELISAアッセイによる精製されたカニクイザルCD38への抗CD38結合クローンの結合を示している。各抗CD38結合クローンは、scFvにフォーマット化され、次いで志賀毒素Aサブユニットに融合された。

【図4】CD38細胞外ドメイン上の重要な接触残基であって、抗CD38結合クローンCD38TM4(F216、L262、C119、L124、C201、L230、C254、C275)及び抗CD38モノクローナル抗体のガラツムマブ(S274)に対するもの示している。

30

【図5A】抗CD38抗体のガラツムマブ(Dara)、HB-7、AT13-5及びOKT-10ならびにいくつかのタンパク質の存在下でのCD38発現MOLP-8細胞への抗CD38結合クローン(scFv-SLTA融合フォーマット)の結合を示している。CD38を標的とする参照分子#1(CD38TR1)もまた、scFv-SLTA融合タンパク質のフォーマットである。

【図5B】抗CD38抗体のガラツムマブ(Dara)、HB-7、AT13-5及びOKT-10ならびにいくつかのタンパク質の存在下でのCD38発現MOLP-8細胞への抗CD38結合クローン(scFv-SLTA融合フォーマット)の結合を示している。CD38を標的とする参照分子#1(CD38TR1)もまた、scFv-SLTA融合タンパク質のフォーマットである。

40

【図5C】CD38発現MOLP-8細胞への、scFv-SLTA融合フォーマットのCD38を標的とする参照分子#1(CD38TR1)を含む抗CD38結合クローンの競合的結合を示している。すべてのシグナルは、フローサイトメトリーによって検出された。

【図5D】抗CD38抗体クローン(scFv単独フォーマット)(最初の左のカラム)の存在下での、scFv-SLTA融合タンパク質フォーマットの抗CD38結合クローン(最上行)の結合をまとめた表である。

【図6A】CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の鎖可変重及び可変軽ドメインならびにCDR(完全ドメインで下線が引かれている)の配列を示している。

50

【図6B】CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の鎖可変重及び可変軽ドメインならびにCDR（完全ドメインで下線が引かれている）の配列を示している。

【図6C】CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の鎖可変重及び可変軽ドメインならびにCDR（完全ドメインで下線が引かれている）の配列を示している。

【図6D】CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の鎖可変重及び可変軽ドメインならびにCDR（完全ドメインで下線が引かれている）の配列を示している。

【図6E】CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の鎖可変重及び可変軽ドメインならびにCDR（完全ドメインで下線が引かれている）の配列を示している。 10

【図6F】CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の鎖可変重及び可変軽ドメインならびにCDR（完全ドメインで下線が引かれている）の配列を示している。

【図6G】CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の鎖可変重及び可変軽ドメインならびにCDR（完全ドメインで下線が引かれている）の配列を示している。

【図7】本発明のCD38標的抗原の配列を示している。

【図8】いくつかのリンカー配列を示している。 20

【図9-1】実施例で使用された抗CD38結合ドメインに融合されたいくつかの志賀毒素タンパク質の配列を示している。

【図9-2】実施例で使用された抗CD38結合ドメインに融合されたいくつかの志賀毒素タンパク質の配列を示している。

【図10A】いくつかの標準的な変異体を含むヒトIgG1、IgG2及びIgG4に基づく多数のIgG重定常ドメイン「骨格」、ならびに定常軽カッパの配列及び定常軽ラムダ配列を示している。当業者によって理解されるように、及び以下に記載されるように、これらの骨格のいずれかは、CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の可変重及び可変軽ドメインと組み合わせられ得る。 30

【図10B】いくつかの標準的な変異体を含むヒトIgG1、IgG2及びIgG4に基づく多数のIgG重定常ドメイン「骨格」、ならびに定常軽カッパの配列及び定常軽ラムダ配列を示している。当業者によって理解されるように、及び以下に記載されるように、これらの骨格のいずれかは、CD38TM1、CD38TM2、CD38TM3、CD38TM4、CD38TM5、CD38TM6及びCD38TR1の可変重及び可変軽ドメインと組み合わせられ得る。

【図11A】それぞれIMACカラム及びプロテインL（Pro-L）カラムによるCD38TM3-SLTA及びCD38TM4-SLTAの精製を示している。MWマーカは、分子量マーカが位置する箇所を示している。

【図11B】それぞれIMACカラム及びプロテインL（Pro-L）カラムによるCD38TM3-SLTA及びCD38TM4-SLTAの精製を示している。MWマーカは、分子量マーカが位置する箇所を示している。 40

【図11C】CD38TM3の最初の21アミノ酸（下線部）は、CD38TR1の最初の22アミノ酸（下線部）に置き換えられてCD38TM4が誘導される。

【図12】2つの同一のscFv（それぞれN末端からC末端に向かってVH-GGGGS-VLを含有する）によって形成されたダイアボディ（VH及びVLはCD38TM4に由来する）のX線構造の図を示している。一方のscFv鎖（鎖A）のVHは、他方のscFv（鎖B）のVLと複合体化してCD38結合ドメインを形成する。

【発明を実施するための形態】

【0026】 50

V．発明の詳細な説明

A．概要

CD38の発現の増加は、造血起源の多様な疾患に関連している。そのような疾患には、多発性骨髄腫、慢性リンパ芽球性白血病、B細胞慢性リンパ球性白血病、B細胞急性リンパ球性白血病を含む急性リンパ芽球性白血病、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、原発性全身性アミロイドーシス、マンツル細胞リンパ腫、前リンパ球性/骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、濾胞性リンパ腫、NK細胞白血病及び血漿細胞白血病が含まれるがこれらに限定されない。このように、CD38は、造血系の疾患の処置において有用な標的を提供する。いくつかの抗CD38抗体は、CD38関連がんの処置のための臨床試験にある。したがって、CD38に対する抗体は、がんを処置及び診断するために有用である。

【0027】

本発明は、ヒト及びカニクイザルのCD38に高親和性で結合することができる抗CD38結合ドメインを提供する。さらに、本明細書に開示される抗CD38結合ドメインは、ダラムマブの存在下でCD38に結合することが可能であり、よって、臨床試験において既存の抗CD38抗体の一部では見られない臨床適用における利点を提供する。

【0028】

B．定義

本出願がより完全に理解され得るようになるために、いくつかの定義を以下に示す。そのような定義は、文法的に同等のものを包含することを意味する。

【0029】

本明細書における「排除 (a b l a t i o n)」は、活性の低下または除去を意味する。いくつかの実施形態では、抗体の定常ドメインから活性を除去することが有用である。よって、例えば、「Fc R結合を排除すること」は、Fc領域アミノ酸変異体が、特定の変異体を含むしないFc領域と比較してFc Rに対する50%未満の開始結合を有し、70 - 80 - 90 - 95 - 98%未満の活性喪失が好ましく、通常は、活性がBiacoreアッセイにおいて検出可能な結合のレベルを下回ることを意味する。例えば、IgG1定常領域における1つの排除変異体は、N297A変異体であり、これは、天然グリコシル化部位を除去し、Fc RI I I a結合を有意に低減し、これにより抗体依存性細胞媒介細胞傷害 (A D C C) を低減する。

【0030】

「ADCC」または「抗体依存性細胞媒介細胞傷害」は、本明細書で使用される場合、Fc Rsを発現する非特異的細胞傷害性細胞が、標的細胞上で結合した抗体を認識し、その後、標的細胞の溶解を引き起こす細胞媒介反応を意味する。ADCCは、Fc RI I I aへの結合に相関し；Fc RI I I aへの結合の増加は、ADCC活性の増加につながる。

【0031】

本明細書における「抗原結合ドメイン」または「ABD」は、ポリペプチド配列の一部として提示された場合、本明細書に論述される標的抗原に特異的に結合する6つの相補性決定領域 (C D R) のセットを意味する。よって、「抗CD38抗原結合ドメイン」は、本明細書に概説されるCD38抗原に結合する。当該技術分野で知られているように、これらのCDRは通常、可変重CDR (v h C D R または V H C D R) の第1のセット及び可変軽CDR (v l C D R または V L C D R) の第2のセットとして提供され、それぞれが3つのCDR：重鎖についてはv h C D R 1、v h C D R 2、v h C D R 3ならびに軽鎖についてはv l C D R 1、v l C D R 2及びv l C D R 3を含む。当該技術分野で理解されているように、CDRは、重可変及び軽可変領域の各々においてフレームワーク領域によって隔てられており：軽可変領域の場合、これらは、(V L) F R 1 - v l C D R 1 - (V L) F R 2 - v l C D R 2 - (V L) F R 3 - v l C D R 3 - (V L) F R 4であり、重可変領域の場合、これらは、(V H) F R 1 - v h C D R 1 - (V H) F R 2 - v h C D R 2 - (V H) F R 3 - v h C D R 3 - (V H) F R 4である。本発明の抗原結合ド

メインは、複数のフォーマット、例えば、F a b、F v 及び s c F v で具現化され得る。「F a b」フォーマットでは、6つのCDRのセットは、2つの異なるポリペプチド配列、すなわち、重可変領域（v h または V H ; v h C D R 1、v h C D R 2 及び v h C D R 3 を含有する）及び軽可変領域（v l または V L ; v l C D R 1、v l C D R 2 及び v l C D R 3 を含有する）によって与えられ、V H のC末端は、重鎖のC H 1ドメインのN末端に結合されており、V L のC末端は、定常軽ドメインのN末端に結合されている（これにより軽鎖を形成する）。重可変領域及び軽可変領域は一緒にF v を形成し、これは本明細書で概説されるように、s d F v または F a b のいずれかであり得る。よって、いくつかの場合では、抗原結合ドメインの6つのCDRは、V H 及びV L によって与えられる。s c F v フォーマットでは、V H 及びV L は、通常は本明細書に概説されるリンカーの使用を介して共有結合して単一のポリペプチド配列となっており、これは（N末端から開始して）V H - リンカー - V L または V L - リンカー - V H のいずれかであり得る。

10

【0032】

本明細書における「リンカー」は、2つのタンパク質ドメインを一緒に接合させ、例えば、s c F v 及び / または他のタンパク質ならびにタンパク質融合構造において使用されるドメインリンカーを意味する。通常、2つのドメインの組換え結合を可能にする組換え技術によって生成された、各ドメインがその生物学的機能を保持することが可能となるように十分な長さ及び柔軟性を有する、伝統的なペプチド結合を含む、使用され得る多数の好適なリンカーが存在する。リンカーペプチドには、以下のアミノ酸残基が主に含まれ得る：G l y、S e r、A l a、またはT h r。リンカーペプチドは、2つの分子を連結させるのに適した長さを有することで、それらが所望の活性を保持するように互いに対して正しい配置を想定するようなものにすべきである。一実施形態では、リンカーは、長さが約1~50アミノ酸、好ましくは長さが約1~30アミノ酸である。一実施形態では、長さが1~20アミノ酸のリンカーが使用され得、いくつかの実施形態では約5~約10アミノ酸が利用される。有用なリンカーには、例えば、(G S) n、(G S G G S) n、(G G G G S) n、及び(G G G S) n (nは、少なくとも1(通常は3~4)の整数である)を含むグリシン-セリンポリマー、グリシン-アラニンポリマー、アラニン-セリンポリマー、及び他の柔軟性リンカーが含まれる。代替的には、ポリエチレングリコール(P E G)、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアルキレン、またはポリエチレングリコール及びポリプロピレングリコールのコポリマーを含むがこれらに限定されない多様な非タンパク質性ポリマーがリンカーとして利用され得る。他のリンカー配列には、C L / C H 1ドメインのすべての残基ではないC L / C H 1ドメインの任意の長さの任意の配列；例えば、C L / C H 1ドメインの最初の5~12アミノ酸残基が含まれ得る。リンカーはまた、免疫グロブリン軽鎖、例えば、C 1 または C 2 から誘導され得る。リンカーは、例えば、C 1、C 2、C 3、C 4、C 1、C 2、C 3、C 4、及びC μを含む任意のアイソタイプの免疫グロブリン重鎖から誘導され得る。リンカー配列はまた、他のタンパク質、例えば、I g 様タンパク質(例えば、T C R、F c R、K I R)、ヒンジ領域由来配列、及び他のタンパク質からの他の天然配列から誘導され得る。任意の好適なリンカーが使用され得るが、多くの実施形態は、例えば、(G S) n、(G S G G S) n、(G G G G S) n、及び(G G G S) n (nは、少なくとも1(通常は2から3から4から5まで)の整数である)を含むグリシン-セリンポリマーを利用する。「s c F v リンカー」には通常、これらのグリシン-セリンポリマー、例えば、図8に示されるものが含まれる。通常、s c F v リンカーは、V L 及びV H ドメインが適切に会合して単一のポリペプチド上で抗原結合ドメイン(A B D)を形成することが可能なほど十分に長い。

20

30

40

【0033】

用語「抗体」は、最も広い意味で使用され、例えば、インタクト免疫グロブリンまたは抗原結合ドメインを含む。伝統的な抗体構造単位は典型的には、四量体を含む。各四量体は典型的には、ポリペプチド鎖の2つの同一のペアから構成される、それぞれが、1つの「軽」(典型的には約25kDaの分子量を有する)及び1つの「重」鎖(典型的には約50~70kDaの分子量を有する)を有する。ヒト軽鎖は、カッパ及びラムダ軽鎖として

50

分類される。本発明は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、及びI g G 4を含むがこれらに限定されないいくつかのサブクラスを有する、I g G クラスに一般に基づく抗体または抗体断片（抗体モノマー）を対象とする。通常、I g G 1、I g G 2 及び I g G 4 は、I g G 3 よりも頻繁に使用される。I g G 1 は、3 5 6（D または E）及び 3 5 8（L または M）で多型を有する異なるアロタイプを有することが留意されるべきである。本明細書で示される配列は、3 5 6 D / 3 5 8 M アロタイプを使用するが、他のアロタイプが本明細書に含まれる。すなわち、I g G 1 の F c ドメインを含む任意の配列が本明細書に含まれ、3 5 6 D / 3 5 8 M アロタイプを置き換える 3 5 6 E / 3 5 8 L を有し得る。

【0034】

よって、「アイソタイプ」は、本明細書で使用される場合、それらの定常領域の化学的及び抗原的特徴によって定義される免疫グロブリンのサブクラスのいずれかを意味する。

【0035】

各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識に寄与する約 100 ~ 110 またはそれ以上のアミノ酸の変領域を含み、これは通常、当該技術分野及び本明細書において「Fv ドメイン」または「Fv 領域」と称される。変領域では、重鎖及び軽鎖のVドメインの各々について3つのループが集まって抗原-結合部位を形成する。ループの各々は、アミノ酸配列のバリエーションが最も顕著である相補性決定領域（以後「CDR」と称される）と称される。「可変」は、変領域の所定のセグメントが、抗体間で配列が広く異なることを指す。変領域内の可変性は均一には分布しない。その代わりに、V領域は、それぞれ9 ~ 15 アミノ酸長以上である「超可変領域」と呼ばれる極端に可変性のより短い領域によって隔てられた15 ~ 30 アミノ酸のフレームワーク領域（FR）と呼ばれる比較的不变の伸長部からなる。

【0036】

各VH及びVLは、アミノ末端からカルボキシ末端まで以下の順序で配置された3つの超可変領域（「相補性決定領域」「CDR」）及び4つのFRから構成される：FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4。

【0037】

超可変領域は通常、軽鎖可変領域におけるおおよそのアミノ酸残基24 ~ 34（LCDR1；「L」は軽鎖を示す）、50 ~ 56（LCDR2）及び89 ~ 97（LCDR3）ならびに重鎖可変領域におけるおおよその約31 ~ 35B（HCDR1；「H」は重鎖を示す）、50 ~ 65（HCDR2）、及び95 ~ 102（HCDR3）のアミノ酸残基；Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) 及び/または超可変ループを形成するそれらの残基（例えば、軽鎖可変領域における残基26 ~ 32（LCDR1）、50 ~ 52（LCDR2）及び91 ~ 96（LCDR3）ならびに重鎖可変領域における26 ~ 32（HCDR1）、53 ~ 55（HCDR2）及び96 ~ 101（HCDR3）；Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901 - 917 を包含する。本発明の特定のCDRは以下に記載されている。

【0038】

当業者によって理解されるように、CDRの正確な付番及び配置は、異なる付番システム間で異なり得る。しかしながら、可変重及び/または可変軽配列の開示には、関連する（固有の）CDRの開示が含まれることが理解されるべきである。したがって、各可変重領域の開示は、vhCDR（例えば、vhCDR1、vhCDR2 及び vhCDR3）の開示であり、各可変軽領域の開示は、vlCDR（例えば、vlCDR1、vlCDR2 及び vlCDR3）の開示である。

【0039】

CDR付番の有用な比較が以下に示されており、Lafranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27(1): 55 - 77 (2003) を参照されたい：

【表 1】

表 1

	K a b a t + C h o t h i a	I M G T	K a b a t	A b M	C h o t h i a	C o n t a c t
v h C D R 1	2 6 - 3 5	2 7 - 3 8	3 1 - 3 5	2 6 - 3 5	2 6 - 3 2	3 0 - 3 5
v h C D R 2	5 0 - 6 5	5 6 - 6 5	5 0 - 6 5	5 0 - 5 8	5 2 - 5 6	4 7 - 5 8
v h C D R 3	9 5 - 1 0 2	1 0 5 - 1 1 7	9 5 - 1 0 2	9 5 - 1 0 2	9 5 - 1 0 2	9 3 - 1 0 1
v l C D R 1	2 4 - 3 4	2 7 - 3 8	2 4 - 3 4	2 4 - 3 4	2 4 - 3 4	3 0 - 3 6
v l C D R 2	5 0 - 5 6	5 6 - 6 5	5 0 - 5 6	5 0 - 5 6	5 0 - 5 6	4 6 - 5 5
v l C D R 3	8 9 - 9 7	1 0 5 - 1 1 7	8 9 - 9 7	8 9 - 9 7	8 9 - 9 7	8 9 - 9 6

10

20

【 0 0 4 0 】

本明細書をとおして、可変ドメイン内の残基（おおよそ、軽鎖可変領域の残基 1 ~ 1 0 7、及び、重鎖可変領域の残基 1 ~ 1 1 3）を言及する際に、K a b a t の付番システムが一般に使用され、F c 領域に対しては、E U 付番システムが使用される（例えば、K a b a t e t a l . , s u p r a （ 1 9 9 1 ））。

【 0 0 4 1 】

本発明は、多数の異なる C D R セットを提供する。この場合、「完全 C D R セット」は、3 つの可変軽 C D R、及び 3 つの可変重 C D R、例えば v l C D R 1、v l C D R 2、v l C D R 3、v h C D R 1、v h C D R 2、及び v h C D R 3 を含む。これらは丁重に、より大きな可変軽ドメインまたは可変重ドメインの一部であることができる。さらに、本明細書でより完全に概説されるように、可変重ドメイン及び可変軽ドメインは、重鎖及び軽鎖が使用されるとき（例えば、F a b が使用されるとき）は、個別のポリペプチド鎖上に存在することができる。または、s c F v 配列の場合には、単一のポリペプチド鎖上に存在することができる。

30

【 0 0 4 2 】

C D R は、抗原結合部位、またはより具体的には、抗体のエピトープ結合部位の形成に寄与する。

40

【 0 0 4 3 】

「エピトープ」とは、パラトープとして知られている抗体分子の可変領域内で、特異的抗原結合部位と相互作用する決定基を意味する。エピトープは、アミノ酸または糖側鎖といった分子の組み分けであり、通常、特異的な構造上の特徴、加えて、特異的な電荷の特徴を有する。単一抗原は、2 つ以上のエピトープを有し得る。エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基（エピトープの免疫優性成分とも呼ばれる）、及び、他のアミノ酸残基を含み得、これらは、特異的抗原結合ペプチドにより効率的に遮断されるアミノ酸残基などの結合に直接関与しない。換言すれば、アミノ酸残基は、特異的抗原結合ペプチドのフットプリント内に存在する。エピトープは、配座式または直鎖状のいずれかであることができる。配座エピトープは、直鎖ポリペプチド鎖の異なるセグメントと空間的に並置さ

50

れたアミノ酸により作製される。直線状エピトープは、ポリペプチド鎖内で隣接するアミノ酸残基により作製されたものである。配座及び非配座エピトープは、非配座エピトープではなく、配座エピトープへの結合が、変性溶媒の存在下において喪失されるという点で区別され得る。

【0044】

本明細書において、「修飾」とは、ポリペプチド配列内でのアミノ酸置換、挿入、及び/もしくは欠失、または、タンパク質に化学結合した部分への変化を意味する。例えば、修飾は、タンパク質に結合した、変化した炭水化物またはPEG構造であり得る。本明細書において、「アミノ酸修飾」とは、ポリペプチド配列内でのアミノ酸置換、挿入、及び/または欠失を意味する。明確性のため、特に断りのない限り、アミノ酸修飾は常に、DNAによりコードされるアミノ酸、例えば、DNA及びRNA中にコドンをもつ20個のアミノ酸に対するものである。

10

【0045】

本明細書において、「アミノ酸置換」または「置換」とは、親ポリペプチド配列内の特定の位置において、あるアミノ酸を異なるアミノ酸で置き換えることを意味する。特に、いくつかの実施形態では、置換は、特定の位置において自然に存在しない、また、その生物またはあらゆる生物中に自然に存在しないアミノ酸に対するものである。例えば、置換N297Aは、変異体ポリペプチド、この場合はFc変異体を意味し、位置297におけるアスパラギンがアラニンで置換されている。明確性のため、改変されて、核酸コード配列を変化させたが、開始アミノ酸を変化（例えば、CGG（アルギニンをコードする）をCGA（さらにアルギニンをコードする）に交換して、宿主生物の発現レベルを増加）させないタンパク質は、「アミノ酸置換」ではなく、すなわち、同一のタンパク質をコードする新規の遺伝子の作製にかかわらず、タンパク質が、開始する特定の位置において同一のアミノ酸を有するのであれば、それはアミノ酸置換ではない。

20

【0046】

本明細書において使用する「アミノ酸挿入」または「挿入」は、親ポリペプチド配列内の特定の位置における、アミノ酸配列の付加を意味する。例えば、-233Eまたは233Eは、位置233の後、かつ位置234の前にグルタミン酸を挿入することを表す。さらに、-233ADEまたはA233ADEは、位置233の後、かつ位置234の前に、AlaAspGluを挿入することを表す。

30

【0047】

本明細書で使用する「アミノ酸欠失」または「欠失」は、親ポリペプチド配列内の特定の位置における、アミノ酸配列の除去を意味する。例えば、E233-またはE233#、E233（）、またはE233delは、位置233におけるグルタミン酸の欠失を表す。さらに、EDA233-またはEDA233#は、位置233で開始する配列GluAspAlaの欠失を表す。

【0048】

本明細書で使用する「変異体タンパク質」もしくは「タンパク質変異体」、または「変異体」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾により、親タンパク質のアミノ酸と異なるタンパク質を意味する。タンパク質変異体は、タンパク質そのもの、当該タンパク質を含む組成物、または、当該タンパク質をコードするアミノ酸配列を意味し得る。好ましくは、タンパク質変異体は、親タンパク質と比較して、少なくとも1つのアミノ酸修飾、例えば、親と比較して、約1～約70個のアミノ酸修飾、及び好ましくは、約1～約5個のアミノ酸修飾を有する。後述のように、いくつかの実施形態では、親ポリペプチド、例えばFc親ポリペプチドは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4由来のFc領域といった、ヒト野生型配列であり、一方で、変異体を含むヒト配列は、「親ポリペプチド」としての役割を果たすことも可能である。本明細書におけるタンパク質変異体配列は、親タンパク質配列と少なくとも約80%の同一性、及び、最も好ましくは少なくとも約90%の同一性、より好ましくは少なくとも約95～98～99%の同一性を有する。変異体タンパク質は、変異体タンパク質そのもの、当該タンパク質変異体を含む組成物、または、当

40

50

該タンパク質変異体をコードするDNA配列を意味することができる。

【0049】

したがって、本明細書で使用する「抗体変異体」または「変異体抗体」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾により、親抗体とは異なる抗体を意味し、本明細書で使用する場合、「IgG変異体」または「変異体IgG」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾による、親IgG（ここでも再び、多くの場合においてヒトIgG配列）とは異なる抗体を意味する。本明細書で使用する場合、「免疫グロブリン変異体」または「変異体免疫グロブリン」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾により、親免疫グロブリン配列のアミノ酸とは異なる免疫グロブリン配列を意味する。本明細書で使用する「Fc変異体」または「変異体Fc」は、Fcドメイン中にアミノ酸修飾を含むタンパク質を意味する。本発明のFc変異体は、本発明のFc変異体を構成するアミノ酸修飾に従って定義される。したがって、例えば、S241PまたはS228Pは、親IgG4ヒンジポリペプチドと比較して、位置228に置換プロリンを有するヒンジ変異体であり、付番S228Pは、EUインデックスに従ったものであり、S241Pは、Kabattの付番である。同様に、M252Y/S254T/T256Eは、親Fcポリペプチドと比較して、置換M252Y、S254T、及びT256Eを有するFc変異体を定義する（これらの変異は、Fcドメインの、FcRn受容体への結合を増加させ、故に、分子の半減期を増加させる）。野生型アミノ酸の同一性は特定されない場合があり、この場合、上述の変異体は、252Y/254T/256Eと呼ばれる。置換がもたらされる順序は任意である、即ち、例えば、252Y/254T/256Eは、254T/252Y/256Eと同じFc変異体であり、その他も同様であることに注意されたい。抗体に関連する、本発明で論じた全ての位置に対して、特に断りのない限り、アミノ酸位置の付番は、可変領域の付番に関してはKabattに従い、Fc領域を含む定常領域に関してはEUインデックスに従う。EUインデックス、または、KabattもしくはEU付番スキームにおけるEUインデックスは、EU抗体の付番を意味する（Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85、本明細書にその全体が参照により組み込まれている）。修飾は付加、欠失、または置換であることができる。置換は、自然に発生するアミノ酸、及び場合によっては、合成アミノ酸を含むことができる。例としては、米国特許第6,586,207号；国際公開第98/48032号；同第03/073238号；米国特許第2004-0214988A1号；国際公開第05/35727A2号；同第05/74524A2号、J.W.Chin et al., (2002), Journal of the American Chemical Society 124:9026-9027；J.W.Chin, & P.G.Schultz, (2002), ChemBioChem 11:1135-1137；J.W.Chin, et al., (2002), PICAS United States of America 99:11020-11024；及び、L.Wang, & P.G.Schultz, (2002), Chem. 1-10が挙げられ、これら全体が参照により本明細書に組み込まれている。

【0050】

本明細書で使用する場合、「タンパク質」は、本明細書では少なくとも2つの、共有結合したアミノ酸を意味し、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、及びペプチドを含む。ペプチジル基は、自然に発生するアミノ酸及びペプチド結合、または、合成ペプチド模倣構造、即ち、ペプトイドなどの「アナログ」を含む（全体が参照により組み込まれているSimon et al., PNAS USA 89(20):9367 (1992)を参照のこと）。アミノ酸は、当業者により理解されるように、自然に発生するもの、または合成（例えば、DNAによりコードされるアミノ酸ではないもの）のいずれかであることができる。例えば、ホモフェニルアラニン、シトルリン、オルニチン、及びノルロイシンは、本発明の目的に関しては合成アミノ酸とみなされ、D及びL（RまたはS）構成のアミノ酸が共に利用され得る。本発明の変異体は、例えば、全ての全体が参照により組み込まれている、Cropp & Schultz, 2004, Trends

Genet. 20(12):625-30、Anderson et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA 101(2):7566-71、Zhang et al., 2003, 303(5656):371-3、及び、Chin et al., 2003, Science 301(5635):964-7により説明されている方法が挙げられるがこれらに限定されない、Shultz及び同僚により開発された技術を使用して組み込まれる合成アミノ酸を使用することを含む修飾を含むことができる。さらに、ポリペプチドは、1つまたは2つ以上の側鎖または末端への合成誘導体化、グリコシル化、PEG化、循環置換、環化、他の分子に対するリンカー、タンパク質またはタンパク質ドメインへの融合、及び、ペプチドタグまたはラベルの付加を含むことができる。

10

【0051】

本明細書で使用される「残基」とは、タンパク質中の位置及びそれに関連するアミノ酸同一性を意味する。例えば、アスパラギン297(Asn297またはN297とも呼ばれる)は、偶然にもFc領域がグリコシル化される位置である、ヒト抗体IgG1の297位の残基である。グリコシル化を除去すると、FcRIIIaの結合が消失し、ADCC活性が失われる。

【0052】

本明細書で使用される「Fab」または「Fab領域」とは、VH、CH1、VL、及びCL免疫グロブリンドメインを含むポリペプチドを意味する。Fabは、この領域を単独で指す場合もあれば、全長の抗体または抗体フラグメントの状況におけるこの領域を指す場合もある。

20

【0053】

本明細書で使用される「Fv」または「Fvフラグメント」または「Fv領域」とは、単一の抗体のVL及びVHドメインを含むポリペプチドを意味する。当業者によって理解されるように、これらは、2つのドメイン、可変の重いドメイン及び可変の軽いドメインから構成される。

【0054】

本明細書における「単鎖Fv」または「scFv」とは、一般に本明細書で考察されるようにscFvリンカーを使用して、scFvまたはscFvドメインを形成するために、可変軽ドメインに共有結合された可変重ドメインを意味する。scFvドメインは、N末端からC末端のいずれの方向に配置されてもよい(vh-リンカー-vlまたはvl-リンカー-vh)。一般に、リンカーは、当技術分野で一般的に公知であり、上記で考察されたように、scFvリンカーである。

30

【0055】

本明細書で使用される「IgGサブクラス修飾」または「アイソタイプ修飾」とは、1つのIgGアイソタイプの1つのアミノ酸を、異なる整列されたIgGアイソタイプの対応するアミノ酸に変換するアミノ酸修飾を意味する。例えば、IgG1は、EUの296位にチロシンとIgG2のフェニルアラニンを含むので、IgG2のF296Y置換は、IgGサブクラスの修飾と見なされる。同様に、IgG1には241位にプロリンがあり、IgG4にはセリンがあるので、S241Pを有するIgG4分子は、IgGサブクラス修飾と見なされる。サブクラス修飾は、本明細書ではアミノ酸置換と見なされることに注意のこと。

40

【0056】

本明細書で使用される「天然に存在しない修飾」とは、アイソタイプではないアミノ酸修飾を意味する。例えば、どのIgGも297位にアスパラギンを含むものはないため、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4(またはそれらのハイブリッド)の置換N297Aは、天然に存在しない修飾と見なされる。

【0057】

本明細書で使用される「アミノ酸」及び「アミノ酸同一性」とは、DNA及びRNAによってコードされる20個の天然に存在するアミノ酸のうちの1つを意味する。

50

【 0 0 5 8 】

本明細書で使用される「エフェクター機能」とは、抗体Fc領域とFc受容体またはリガンドとの相互作用から生じる生化学的事象を意味する。エフェクター機能としては、限定するものではないが、ADCC、ADCP、及びCDCが挙げられる。

【 0 0 5 9 】

本明細書で使用される「親ポリペプチド」とは、変異体を生成するためにその後修飾される開始ポリペプチドを意味する。親ポリペプチドは、天然に存在するポリペプチドであっても、または天然に存在するポリペプチドの変異体もしくは操作されたバージョンであってもよい。親ポリペプチドとは、ポリペプチド自体、親ポリペプチドを含む組成物、またはそれらをコードするアミノ酸配列を指す場合もある。したがって、本明細書で使用される「親免疫グロブリン」とは、変異体を生成するように修飾される非修飾免疫グロブリンポリペプチドを意味し、本明細書で使用される「親抗体」とは、変異体抗体を生成するように修飾されている非修飾抗体を意味する。「親抗体」には、以下に概説するように、公知の市販の組換え産生抗体が含まれることに注意のこと。

10

【 0 0 6 0 】

本明細書で使用される「Fc」または「Fc領域」または「Fcドメイン」とは、第1の定常領域免疫グロブリンドメイン（例えば、CH1）及び場合によってはヒンジの一部を除く抗体の定常領域を含むポリペプチドを意味する。IgGの場合、Fcドメインは、免疫グロブリンドメインCH2及びCH3（C2及びC3）、ならびにCH1（C1）とCH2（C2）の間の下部ヒンジ領域を含む。Fc領域の境界は異なる場合があるが、ヒトIgG重鎖Fc領域は通常、そのカルボキシル末端に残基C226またはP230を含むように定義され、この番号付けはKabataの場合と同様にEUインデックスに従う。したがって、IgGの状況での「CH」ドメインは次のとおりである：「CH1」は、Kabataの場合と同様にEUインデックスによる118～215位を指す。「ヒンジ」とは、Kabataの場合と同様に、EUインデックスによる216～230位を指す。「CH2」とは、KabataのようにEUインデックスによる位置231～340を指し、「CH3」は、KabataのようにEUインデックスによる位置341～447を指す。したがって、「Fcドメイン」は、-CH2-CH3ドメイン、及び任意選択でヒンジドメイン（ヒンジ-CH2-CH3）を含む。いくつかの実施形態において、以下により詳細に記載されるとおり、例えば、1つ以上のFcR受容体またはFcRn受容体への結合を変更するために、Fc領域に対してアミノ酸修飾が行われる。

20

30

【 0 0 6 1 】

本明細書で使用される「Fcガンマ受容体」、「FcR」または「FcガンマR」とは、IgG抗体Fc領域に結合し、かつFcR遺伝子によってコードされるタンパク質ファミリーの任意のメンバーを意味する。ヒトでは、このファミリーとしては、限定するものではないが、FcRI（CD64）、例としては、アイソフォームFcRIa、FcRIb、及びFcRIc；FcRII（CD32）、例としては、アイソフォームFcRIIa（アロタイプH131及びR131を含む）、FcRIIb（FcRIIb-1及びFcRIIb-2を含む）、及びFcRIIc；ならびにFcRIII（CD16）例としては、アイソフォームFcRIIIa（アロタイプV158及びF158を含む）及びFcRIIIb（アロタイプFcRIIb-NA1及びFcRIIb-NA2を含む）（Jefferys et al., 2002, Immunol Lett 82: 57-65、完全に参照により組み込まれる）、ならびに任意の未発見のヒトFcRまたはFcRアイソフォームまたはアロタイプが挙げられる。場合によっては、本明細書に概説されるように、1つ以上のFcR受容体への結合が減少または除去される。例えば、FcRIIIaへの結合を減少させると、ADCCが減少し、場合によっては、FcRIIIa及びFcRIIbへの結合を減少させることが望ましい。

40

【 0 0 6 2 】

本明細書で使用される「FcRn」または「新生児Fc受容体」とは、IgG抗体Fc領

50

域に結合し、少なくとも部分的にFcRn遺伝子によってコードされるタンパク質を意味する。FcRnは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、及びサルを含むがこれらに限定されない任意の生物に由来し得る。当技術分野で公知であるように、機能的FcRnタンパク質は、しばしば重鎖及び軽鎖と呼ばれる2つのポリペプチドを含む。軽鎖はベータ-2-ミクログロブリンであり、重鎖はFcRn遺伝子によってコードされている。本明細書で特に断りのない限り、FcRnまたはFcRnタンパク質とは、FcRn重鎖とベータ-2-ミクログロブリンとの複合体を指す。本明細書で考察されるように、FcRn受容体への結合が望ましく、場合によっては、Fc変異体を導入して、FcRn受容体への結合を増大してもよい。

【0063】

10

本明細書における「重定常領域」とは、ヒトIgG抗体のCH1-ヒンジ-CH2-CH3部分を意味する。多数の適切な重定常領域が図10に示されている。

【0064】

「軽定常領域」とは、カッパまたはラムダ由来のCLドメインを意味し、その配列は図10に示されている。

【0065】

本明細書で使用される「位置」とは、タンパク質の配列における位置を意味する。位置には、順番に番号付けてもよいし、または確立された形式、例えば抗体番号付けのEUIンデックスに従って番号付けしてもよい。

【0066】

20

本明細書で使用される「標的抗原」とは、所与の抗体の可変領域によって特異的に結合される分子を意味する。この場合、本明細書で目的の標的抗原は、以下に定義されるように、CD38タンパク質、通常はヒトCD38、及び任意選択でカニクイザルCD38である。したがって、「抗CD38結合ドメイン」は、抗原がCD38である抗原結合ドメイン(ABD)である。

【0067】

本明細書で使用される「標的細胞」とは、標的抗原を発現する細胞を意味する。

【0068】

本明細書で使用される「可変ドメイン」とは、それぞれカッパ、ラムダ、及び重鎖免疫グロブリン遺伝子座を構成する、V_H(V_H:カッパ)、V_L(V_L:ラムダ)、及び/またはVH遺伝子のいずれかによって実質的にコードされる1つ以上のIgドメインを含む免疫グロブリンの領域を意味する。したがって、「可変重ドメイン」は、(VH)FR1-vhCDR1-(VH)FR2-vhCDR2-(VH)FR3-vhCDR3-(VH)FR4を含み、「可変軽ドメイン」は、(VL)FR1-vlCDR1-(VL)FR2-vlCDR2-(VL)FR3-vlCDR3-(VL)FR4を含む。

30

【0069】

本明細書における「野生型またはWT」とは、対立遺伝子のバリエーションを含む、自然界に見出されるアミノ酸配列またはヌクレオチド配列を意味する。WTタンパク質は、意図的に修飾されていないアミノ酸配列またはヌクレオチド配列を有する。

【0070】

40

本発明の抗体は、一般に、単離されているか、または組換えである。「単離された」とは、本明細書に開示される様々なポリペプチドを説明するために使用される場合、それが発現された細胞または細胞培養物から同定及び分離されるか、ならびに/または回収されたポリペプチドを意味する。通常、単離されたポリペプチドは、少なくとも1つの精製ステップによって調製されるであろう。「単離された抗体」とは、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を指す。「組換え体」とは、抗体が、外因性宿主細胞において組換え核酸技術を使用して生成されることを意味する。

【0071】

「特異的結合」または「特異的に結合する」または特定の抗原またはエピトープに「特異的」であるとは、非特異的相互作用とは測定可能なほど異なる結合を意味する。特異的結

50

合は、例えば、一般に結合活性を持たない類似の構造の分子である、対照分子の結合と比較した分子の結合を決定することによって測定され得る。例えば、特異的結合は、標的に類似している対照分子との競合によって決定され得る。

【0072】

本明細書で使用される「カソック (K a s s o c)」または「K a」という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の会合速度を指すことを意図しており、一方、本明細書で使用される「K d i s」または「K d」という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離速度を指すものとする。本明細書で使用される「K D」という用語は、K d 対 K a の比 (すなわち、 $K d / K a$) から得られ、モル濃度 (M) として表される、解離定数を指すものとする。抗体の K D 値は、当技術分野で十分に確立された方法を使用して決定され得る。いくつかの実施形態において、抗体の K D を決定するための方法は、表面プラズモン共鳴を使用することによる、例えば、B I A C O R E (登録商標) システムなどのバイオセンサーシステムを使用することによるものである。いくつかの実施形態において、抗体の K D は、バイオレイヤー干渉法によって決定される。いくつかの実施形態において、K D は、抗原発現細胞を用いたフローサイトメトリーを使用して測定される。いくつかの実施形態において、K D 値は、固定化された抗原を用いて測定される。他の実施形態では、K D 値は、固定化された抗体 (例えば、親マウス抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体変異体) で測定される。特定の実施形態では、K D 値は、二価結合モードで測定される。他の実施形態では、K D 値は一価結合モードで測定される。特定の抗原またはエピトープに対する特異的結合は、例えば、少なくとも約 10^{-7} M、少なくとも約 10^{-8} M、少なくとも約 10^{-9} M、少なくとも約 10^{-10} M、少なくとも約 10^{-11} M、少なくとも約 10^{-12} M、少なくとも約 10^{-13} M、少なくとも約 10^{-14} M の抗原またはエピトープに対する K D を有する抗体によって示され得る。典型的には、抗原に特異的に結合する抗体は、抗原またはエピトープと比較して、対照分子に対して 20 倍、50 倍、100 倍、500 倍、1000 倍、5,000 倍、10,000 倍、またはそれ以上の K D を有する。

10

20

【0073】

タンパク質配列に関する「パーセント (%) アミノ酸配列同一性」は、必要に応じて最大のパーセント配列同一性を達成するために配列をアラインメントしかつギャップを導入した後、また、いずれの同類置換も配列同一性の部分として考慮せず、特定の (親) 配列におけるアミノ酸残基と同一である候補配列におけるアミノ酸残基の百分率として定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のアラインメントは、例えば B L A S T、B L A S T - 2、A L I G N または M e g a l i g n (D N A S T A R) ソフトウェアなどの公表されているコンピュータソフトウェアを使用して、当該分野の能力の範囲内の種々の方法で達成され得る。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大アラインメントを達成するのに必要とされるいずれのアルゴリズムも含めたアルゴリズムを測定するための適切なパラメータを決定することができる。1つの具体的なプログラムは、参照により組み込まれる米国特許公開公報第 20160244525 号の段落 [0279] ~ [0280] に概説されている A L I G N - 2 プログラムである。核酸配列の別の適切なアラインメントは、S m i t h a n d W a t e r m a n, A d v a n c e s i n A p p l i e d M a t h e m a t i c s, 2 : 4 8 2 - 4 8 9 (1981) の局所相同性アルゴリズムによって提供される。このアルゴリズムは、D a y h o f f, A t l a s o f P r o t e i n S e q u e n c e s a n d S t r u c t u r e, M . O . D a y h o f f e d., 5 s u p p l. 3 : 3 5 3 - 3 5 8, N a t i o n a l B i o m e d i c a l R e s e a r c h F o u n d a t i o n, W a s h i n g t o n, D . C., U S A によって開発され、G r i b s k o v, N u c l . A c i d s R e s . 1 4 (6) : 6 7 4 5 - 6 7 6 3 (1986) によって正規化されたスコアリングマトリクスを使用することによってアミノ酸配列に適用され得る。

30

40

【0074】

配列のパーセント同一性を決定するためのこのアルゴリズムの実行の例は、「B e s t F

50

it」ユーティリティアプリケーションにおいて Genetics Computer Group (Madison, WI) によって付与される。この方法に関するデフォルトパラメータは、Wisconsin Sequence Analysis Package Program Manual, Version 8 (1995) (Genetics Computer Group, Madison, WI から入手可能) に記載されている。本発明の文脈において、パーセント同一性を確立する別の方法は、University of Edinburgh が著作権を有し、John F. Collins and Shane S. Sturrok により開発され、IntelliGenetics, Inc. (Mountain View, CA) によって配布されているプログラムの MPSRCH パッケージを使用することである。この一連のパッケージから、Smith-Waterman アルゴリズムを用いることができ、ここで、デフォルトパラメータがスコア表において使用される (例えば、12 のギャップオープンペナルティ、1 のギャップ伸長ペナルティ、及び 6 のギャップ)。生じたデータから、「Match (一致)」の値が「配列同一性」を反映する。配列間のパーセント同一性または類似性を計算するための他の好適なプログラムは、当該技術分野において一般に知られており、例えば、別のアルゴリズムプログラムは、デフォルトパラメータを用いて使用される、BLAST である。例えば、BLASTN 及び BLASTP は、以下のデフォルトパラメータを使用して使用され得る：遺伝コード = 標準；フィルタ = なし；鎖 = 両方；カットオフ = 60；予想 = 10；マトリクス = BLOSUM62；記述 = 50 配列；分別 = HIGH SCORE；データベース = 非冗長、GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + GenBank CDS 翻訳 + Swissタンパク質 + Snpupdate + PIR。これらのプログラムの詳細は、以下にあるインターネットアドレスに見出すことができる：<http://infrontofblast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>。

【0075】

本発明のアミノ酸配列（「本発明配列」）と親アミノ酸配列との間の同一性の程度は、「本発明配列」の長さまたは親配列の長さの、いずれか最も短い方によって除算された、2つの配列のアラインメントにおける正確な一致の数として計算される。この結果は、パーセント同一性で表される。

【0076】

用語「処置」、「処置すること」、「処置する」などは、所望の薬理的及び/または生理的効果を得ることを指す。この効果は、疾患もしくはその症状を完全にもしくは部分的に防止する、または、疾患もしくはその症状を低減するという点において予防的であってよく、ならびに/あるいは、疾患及び/または当該疾患に起因する副作用の部分的または完全な治癒という点において治療的であってよい。「処置」は、本明細書において使用されているとき、哺乳動物、特にヒトにおける疾患の任意の処置をカバーし、また：(a) 疾患を有するとまだ診断されていないが罹り易くなっている場合がある対象において起こる疾患を防止すること；(b) 疾患を阻害すること、すなわち、その発症または進行を阻むこと；ならびに (c) 疾患を軽減すること、すなわち、疾患の退縮を引き起こし及び/または1以上の疾患症状を軽減することを含む。「処置」はまた、疾患または状態の非存在下においても、薬理的効果を付与するために、薬剤の送達を包含することも意図される。例えば、「処置」は、例えばワクチンの場合において、疾患状態の非存在下に免疫反応を生じさせるまたは免疫を与えることができる組成物の送達を包含する。

【0077】

組成物の「有効量」または「治療有効量」は、組成物が投与される対象に有益な効果を付与するのに十分である組成物の量を含む。送達ビヒクルの「有効量」は、組成物を有効に結合させるまたは送達するのに十分な量を含む。

【0078】

用語「核酸」は、単鎖、二本鎖の、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドを含めた任意の形態において1を超えるヌクレオチドを有するRNAまたはDNA分子を含む。用

語「ヌクレオチド配列」は、単鎖形態の核酸中のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドにおけるヌクレオチドの順序付けを含む。

【0079】

用語「プロモータ」は、本明細書において使用されているとき、所望の分子をコードする核酸配列などの転写される核酸配列に操作可能に連結されたDNA配列を含む。プロモータは、転写される核酸配列の上流に概して位置付けられており、RNAポリメラーゼ及び他の転写因子による特異的な結合のための部位を提供する。

【0080】

「ベクター」は、遺伝子配列を標的細胞に導入することが可能である。典型的には、「ベクター構築物」、「発現ベクター」、及び「遺伝子導入ベクター」は、対象となる遺伝子の発現を誘導することが可能である任意の核酸構築物を意味し、これは、遺伝子配列を標的細胞に導入することができ、ベクターの全てもしくは一部のゲノム組み込み、または染色体外要素としてのベクターの一時的もしくは遺伝的維持によって達成され得る。そのため、この用語は、クローニング、及び発現ビヒクル、ならびに統合ベクターを含む。

10

【0081】

本明細書で使用される場合、「調節エレメント」という用語は、核酸配列の発現のいくつかの態様を制御するヌクレオチド配列を含む。調節エレメントの例としては、例示的には、エンハンサー、配列内リボソーム進入部位(IRES)、イントロン、複製起点、ポリアデニル化シグナル(pA)、プロモータ、エンハンサー、転写終結配列および上流調節ドメインが挙げられ、これらは、核酸配列の複製、転写および/または翻訳後プロセシングに寄与する。いくつかの場合、調節エレメントはまた、シス調節DNAエレメントならびに転位エレメント(TE)を含んでいてもよい。当業者は、日常的な実験のみを用いてこれらのおよび他の調節エレメントを選択し、発現構築物中で使用することができる。発現構築物は、遺伝子組換えアプローチまたは周知の方法を用いて合成的に作製することができる。

20

【0082】

「制御エレメント」または「制御配列」は、ポリヌクレオチドの複製(replication)、複製(duplication)、転写、スプライシング、翻訳、または分解を含む、ポリヌクレオチドの機能調節に寄与する分子の相互作用に関与するヌクレオチド配列である。調節は、プロセスの頻度、速度、または特異性に影響を及ぼし得、本質的に増強性または阻害性であり得る。当該分野で公知の制御エレメントとしては、例えば、プロモータおよびエンハンサーなどの転写調節配列が挙げられる。プロモータは、特定の条件下でRNAポリメラーゼに結合し、通常はプロモータの下流(3'方向)に位置するコード領域の転写を開始することが可能なDNA領域である。

30

【0083】

C. CD38タンパク質および抗CD38結合ドメイン

1. CD38タンパク質

本発明は、ヒトおよびカニクイザルCD38タンパク質に特異的に結合する抗CD38結合ドメインを提供する。ヒトおよびカニクイザルCD38タンパク質のアミノ酸配列は、RefSeqアクセス識別子NP_001766.2(配列番号28)およびNP_001274206.1(配列番号30)にそれぞれ示され、ECD配列(それぞれ配列番号29および配列番号31)は図7に示される。

40

【0084】

したがって、本明細書で使用される場合、「CD38」または「CD38タンパク質」または「CD38ポリペプチド」という用語は、場合により、非限定的に本明細書に記載される公知のまたは野生型CD38、ならびに任意の天然に存在するスプライス変異体、アミノ酸変異体またはアイソフォーム、特にCD38の細胞外ドメイン(ECD)フラグメントを含む任意のそのようなタンパク質、変異体、コンジュゲートまたはそれらのフラグメントを含み得る。すなわち、本発明のABDは、一般的に、ヒトおよびカニクイザルCD38タンパク質の両方のECDドメインに結合する。

50

【 0 0 8 5 】

2. 抗CD38結合ドメイン

本発明は、異なるフォーマットまたは配向の多数の抗CD38結合ドメインを提供する。抗CD38結合ドメインの特異的なCDRを以下に記載する。上述のように、CDRの正確な番号付けおよび配置は、異なる番号付けシステム間で異なり得る。しかしながら、重可変領域および/または軽可変領域の開示は、関連する(固有の)CDRの開示を含むことを理解されたい。したがって、各重可変領域の開示はvhCDR(例えば、vhCDR1、vhCDR2およびvhCDR3)の開示であり、各軽可変領域の開示はvlCDR(例えば、vlCDR1、vlCDR2およびvlCDR3)の開示である。

【 0 0 8 6 】

本開示は、新規な抗CD38結合ドメインを提供する。そのような抗原結合ドメインは、ヒトおよびカニクイザルCD38タンパク質に結合することができる。図6A - 図6Gは、ヒトおよびカニクイザルCD38の両方に結合することができる4つの異なる抗CD38ABDのアミノ酸配列を示す。いくつかの実施形態において、重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、Fabフォーマットで配置され、これは、下記で論じるように、場合によって完全長抗体に含まれる。いくつかの実施形態において、重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、本明細書中で一般的に概説されるように、共に融合してscFvを形成する。

【 0 0 8 7 】

CDRおよび/またはフレームワーク領域の1つ以上にアミノ酸改変を有する抗CD38ABDも本明細書に含まれる。

【 0 0 8 8 】

本明細書に概説されるように、いくつかの実施形態において、6つのCDRのセットは、0、1、2、3、4、5または6つのアミノ酸改変を有していてもよい(アミノ酸置換は特定の用途が見出されている)。すなわち、CDRは、CDRのセットにアミノ酸改変(例えば1、2、3、4、5または6つのアミノ酸変異を有していてもよい(すなわち、CDRは、6つのCDRのセットにおける変化の総数が6未満のアミノ酸改変である限り改変されていてよく、CDRの任意の組み合わせが変化しており、例えば、vlCDR1に1つの変化、vhCDR2に2つの変化、vhCDR3に変化なし等があり得る)。いくつかの実施形態において、vhCDR3におけるアミノ酸置換はあまり好ましくないか、または回避される。いくつかの場合、ヒトおよびカニクイザルCD38のいずれかまたは両方に対する結合親和性が上昇し得るが、他の実施形態では、結合親和性は低下し得る。これらの実施形態において、ヒトおよびカニクイザルCD38への結合が保持される。本明細書に概説されるVHおよびVL配列と比較して、改変を含む抗CD38抗原結合ドメインが当技術分野で公知であるかどうかを試験するための適切なアッセイ、例えばBiacoreアッセイまたは実施例1、2または3に概説される結合アッセイ。

【 0 0 8 9 】

いくつかの実施形態において、本明細書に概説される抗CD38ABDはまた、フレームワーク(CDRを除く)がヒト生殖細胞系列配列に対して少なくとも約80、85または90%の同一性を保持する限り、可変重および可変軽フレームワーク領域のいずれかまたは両方のフレームワーク領域にアミノ酸改変を有し得る(ここでも、アミノ酸置換は特定の用途を見出されている)。したがって、例えば、フレームワーク領域がヒト生殖細胞系列配列に対して少なくとも80、85または90%の同一性を保持する限り、本明細書に記載の同一のCDRは、ヒト生殖細胞系列配列からの異なるフレームワーク配列と組み合わせることができる。

【 0 0 9 0 】

他の態様において、本発明は、上記の重鎖可変領域および軽鎖可変領域の変異体を含む抗CD38結合ドメインをさらに提供する。重鎖可変領域は、本明細書の「VH」配列と少なくとも80%(例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%)同一であり得、および/または1、2、3、

10

20

30

40

50

4、5、6、7、8、9、10のアミノ酸変化を含み得る。軽鎖可変領域は、本明細書の「V L」配列と少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一であり得、および/または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10のアミノ酸変化を含み得る。これらの実施形態において、本発明は、抗原結合ドメインがヒトおよびカニクイザルCD38に結合する限り、これらの変異体を含む。本明細書に概説されるV HおよびV L配列と比較して、変異を含む抗CD38抗原結合ドメインが当技術分野で公知であるかどうかを試験するための適切なアッセイ、例えばB i a c o r eアッセイまたは実施例1、2または3に概説される結合アッセイ。

10

【0091】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM1であり、配列番号9に対して少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号13に対して少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

【0092】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM1であり、配列番号10を含むv h C D R 1、配列番号11を含むv h C D R 2、配列番号12を含むv h C D R 3、配列番号14を含むv l C D R 1、配列番号15を含むv l C D R 2、および配列番号16を含むv l C D R 3を含む。いくつかの実施形態において、そのような6つのC D Rの1つ以上は、1、2、3、4または5つのアミノ酸改変を有する。さらなる実施形態において、任意の単一のC D Rは1または2つ以下のアミノ酸置換を含み、改変抗CD38抗原結合ドメインは、ヒトおよび/またはカニクイザルCD38への結合を保持する。

20

【0093】

いくつかの実施形態において、CD38TM1の抗CD38結合ドメインは、配列番号9において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するV Hドメインを有する。

30

【0094】

いくつかの実施形態において、CD38TM1の抗CD38結合ドメインは、配列番号13において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するV Lドメインを有する。

【0095】

いくつかの実施形態において、CD38TM1の抗CD38結合ドメインは、配列番号9において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するV Hドメインと、配列番号13において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するV Lドメインとを有する。

40

【0096】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM1であり、配列番号9を有するV Hと配列番号13を有するV Lとを有する。

【0097】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM2であり、配列番号17に対して少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号21に対して少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%

50

、 92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%) 同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

【0098】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM2であり、配列番号18を含むvhCDR1、配列番号19を含むvhCDR2、配列番号20を含むvhCDR3、配列番号22を含むvlCDR1、配列番号23を含むvlCDR2、および配列番号24を含むvlCDR3を含む。いくつかの実施形態において、そのような6つのCDRの1つ以上は、1、2、3、4または5つのアミノ酸改変を有する。さらなる実施形態において、単一のCDRは1または2つ以下のアミノ酸置換を含み、改変抗CD38抗原結合ドメインはヒトおよび/またはカニクイザルCD38への結合を保持する。

10

【0099】

いくつかの実施形態において、CD38TM2の抗CD38結合ドメインは、配列番号17において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVHドメインを有する。

【0100】

いくつかの実施形態において、CD38TM1の抗CD38結合ドメインは、配列番号21において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVLドメインを有する。

【0101】

いくつかの実施形態において、CD38TM2の抗CD38結合ドメインは、配列番号17において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVHドメインと、配列番号21において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVLドメインとを有する。

20

【0102】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM2であり、配列番号17を有するVHと配列番号21を有するVLとを有する。

【0103】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM3であり、配列番号1に対して少なくとも80% (例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%) 同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号5に対して少なくとも80% (例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%) 同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

30

【0104】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM3であり、配列番号2を含むvhCDR1、配列番号3を含むvhCDR2、配列番号4を含むvhCDR3、配列番号6を含むvlCDR1、配列番号7を含むvlCDR2、および配列番号8を含むvlCDR3を含む。いくつかの実施形態において、そのような6つのCDRの1つ以上は、1、2、3、4または5つのアミノ酸改変を有する。さらなる実施形態において、単一のCDRは1または2つのアミノ酸置換を含み、改変抗CD38抗原結合ドメインはヒトおよび/またはカニクイザルCD38への結合を保持する。

40

【0105】

いくつかの実施形態において、CD38TM3の抗CD38結合ドメインは、配列番号1において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVHドメインを有する。

【0106】

いくつかの実施形態において、CD38TM3の抗CD38結合ドメインは、配列番号5において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVLドメインを有する。

【0107】

50

いくつかの実施形態において、CD38TM3の抗CD38結合ドメインは、配列番号1において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVHドメインと、配列番号5において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVLドメインとを有する。

【0108】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM3であり、配列番号1を有するVHと配列番号5を有するVLとを有する。

【0109】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、本開示におけるCD38TM4であり、配列番号1に対して少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号25に対して少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

10

【0110】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM4であり、配列番号2を含むvhCDR1、配列番号3を含むvhCDR2、配列番号4を含むvhCDR3、配列番号6を含むvlCDR1、配列番号7を含むvlCDR2、および配列番号8を含むvlCDR3を含む。いくつかの実施形態において、そのような6つのCDRの1つ以上は、1、2、3、4または5つのアミノ酸改変を有する。さらなる実施形態において、単一のCDRは1または2つのアミノ酸置換を含み、改変抗CD38抗原結合ドメインはヒトおよび/またはカニクイザルCD38への結合を保持する。

20

【0111】

いくつかの実施形態において、CD38TM4の抗CD38結合ドメインは、配列番号1において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVHドメインを有する。

【0112】

いくつかの実施形態において、CD38TM1の抗CD38結合ドメインは、配列番号25において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVLドメインを有する。

30

【0113】

いくつかの実施形態において、CD38TM4の抗CD38結合ドメインは、配列番号1において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVHドメインと、配列番号25において1、2、3、4または5つ以下のアミノ酸変化を有するVLドメインとを有する。

【0114】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM4であり、配列番号1を有するVHと配列番号25を有するVLとを有する。

【0115】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、本開示におけるCD38TM5であり、配列番号53に対して少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、配列番号57に対して少なくとも80%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域とを含む。

40

【0116】

いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、CD38TM5であり、配列

50

番号 54 を含む v h C D R 1、配列番号 55 を含む v h C D R 2、配列番号 56 を含む v h C D R 3、配列番号 58 を含む v l C D R 1、配列番号 59 を含む v l C D R 2、および配列番号 60 を含む v l C D R 3 を含む。いくつかの実施形態において、そのような 6 つの C D R の 1 つ以上は、1、2、3、4 または 5 つのアミノ酸改変を有する。さらなる実施形態において、単一の C D R は 1 または 2 つのアミノ酸置換を含み、改変抗 C D 3 8 抗原結合ドメインはヒトおよび / またはカニクイザル C D 3 8 への結合を保持する。

【0117】

いくつかの実施形態において、C D 3 8 T M 5 の抗 C D 3 8 結合ドメインは、配列番号 53 において 1、2、3、4 または 5 つ以下のアミノ酸変化を有する V H ドメインを有する。

10

【0118】

いくつかの実施形態において、C D 3 8 T M 5 の抗 C D 3 8 結合ドメインは、配列番号 57 において 1、2、3、4 または 5 つ以下のアミノ酸変化を有する V L ドメインを有する。

【0119】

いくつかの実施形態において、C D 3 8 T M 5 の抗 C D 3 8 結合ドメインは、配列番号 53 において 1、2、3、4 または 5 つ以下のアミノ酸変化を有する V H ドメインと、配列番号 57 において 1、2、3、4 または 5 つ以下のアミノ酸変化を有する V L ドメインとを有する。

【0120】

いくつかの実施形態において、抗 C D 3 8 結合ドメインは、C D 3 8 T M 5 であり、配列番号 53 を有する V H と配列番号 57 を有する V L とを有する。

20

【0121】

各抗 C D 3 8 結合ドメインについての重鎖および軽鎖可変領域および / または C D R における本明細書に記載の配列変異体に加えて、重および / または軽可変領域 (複数可) のフレームワーク領域 (複数可) において変化を行ってよい。いくつかの実施形態において、6 つの C D R を未変化に保ち、ヒトおよび / またはカニクイザル C D 3 8 への結合を保持しながら、表 1 に記載のフレームワーク領域配列に対して少なくとも 80、85、90 または 95 % の同一性を保持する、フレームワーク領域における変形を行う。

【0122】

いくつかの実施形態において、ヒトおよび / またはカニクイザル C D 3 8 に対する抗 C D 3 8 結合ドメインの結合を保持しながら、フレームワーク領域および 6 つの C D R の両方において変形を行う。これらの実施形態において、C D R はアミノ酸改変を有してよい (例えば、6 つの C D R のセットにおける 1、2、3、4 または 5 つのアミノ酸改変、すなわち、C D R は、6 つの C D R のセットにおける変化の総数が 6 未満のアミノ酸改変である限り、C D R は改変されてよく、C D R の任意の組み合わせが変化し、例えば、v l C D R 1 に 1 つの変化、v h C D R 2 に 2 つの変化、v h C D R 3 になし等があり得る)。

30

【0123】

抗 C D 3 8 結合ドメインのエピトープは、以下に概説されるようにマッピングされる。本発明は、本明細書に列挙される抗原結合ドメインおよび抗体だけでなく、列挙される抗原結合ドメインによって結合されるエピトープとの結合について競合するもの、例えば、C D 3 8 T M 1、C D 3 8 T M 2、C D 3 8 T M 3、C D 3 8 T M 4 および C D 3 8 T M 5 も含む。同一のエピトープを認識する抗原結合ドメインは、1 つの抗原結合ドメイン (またはそのような抗原結合ドメインを含む抗体) の、他の抗原結合ドメイン (またはそのような抗原結合ドメインを含む抗体) の標的抗原 C D 3 8 への結合を阻止する能力、例えば「ピニング」を示す単純競合イムノアッセイで検証することができる。競合結合試験は、当技術分野で公知のように、一般的に S P R / B i a c o r e (登録商標) 結合アッセイならびに E L I S A および細胞ベースのアッセイを使用して行うことができる。

40

【0124】

50

D．抗CD38結合ドメインの特徴

本発明は、新規な抗CD38結合ドメインを提供する。抗CD38結合ドメインは、ヒトおよびカニクイザルCD38、好ましくはヒトおよびカニクイザルCD38のECDに特異的に結合する。ヒトおよびカニクイザルCD38の両方への結合は有用であり、これは、例えば、薬物動態学、薬力学、および毒物学に関して、CD38を標的とする分子のインビボ効果および挙動を決定、推定、および理解するのに助けるために、カニクイザル動物をヒト対象のモデルとして使用することができるためであり、ここで、前記モデルは、関連する種に翻訳可能な分子による標的結合および標的細胞死滅を有し得る。

【0125】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗CD38結合ドメインは、高い親和性でヒトおよびカニクイザルCD38に結合する。K_D値は、抗原を固定した状態または抗体を固定した状態で測定することができる。K_D値は、1価または2価の結合様式で測定することもできる。例えば、IgG1にフォーマット化し、フローサイトメトリーで測定する場合、ヒトCD38に結合する抗原結合ドメインのK_D値は、 1×10^{-6} M以下、 5×10^{-7} M以下、 2.5×10^{-7} M以下、 1×10^{-7} M以下、 5×10^{-8} M以下、 1×10^{-8} M以下、 1×10^{-9} M以下または 1×10^{-10} M以下であり得る。カニクイザルCD38に結合する抗原結合ドメインのK_D値は、 1×10^{-6} M以下、 5×10^{-7} M以下、 2.5×10^{-7} M以下、 1×10^{-7} M以下、 5×10^{-8} M以下、 2.5×10^{-8} M以下、 1×10^{-8} M以下、 5×10^{-9} M以下、 1×10^{-9} M以下、 5×10^{-10} M以下または 1×10^{-10} M以下であり得る。いくつかの実施形態において、ヒトCD38に結合する抗原結合ドメインのK_D値は、0.1 nM - 1 μM、0.25 nM - 500 nM、0.5 nM - 250 nM、1 nM - 100 nMまたは1.5 nM - 50 nMの範囲である。いくつかの実施形態において、カニクイザルCD38に結合する抗原結合ドメインのK_D値は、0.1 nM - 1 μM、0.25 nM - 500 nM、0.5 nM - 250 nM、1 nM - 100 nMまたは2 nM - 50 nMの範囲である。

【0126】

さらに、本開示において提供される抗CD38結合ドメインは、ヒトCD38 ECD上のエピトープ中の種々のアミノ酸に結合することができる。いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、R78および/またはD81に結合する。いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインは、F216、L262、L124、C201、L230、C254および/またはS274に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗CD38結合ドメインは、ダラツムマブと重複しない、CD38上のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗CD38結合ドメインは、ダラツムマブと部分的に重複する、CD38上のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗CD38結合ドメインは、ダラツムマブの存在下でヒトおよび/またはカニクイザルCD38に結合することができる。

【0127】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される抗CD38結合ドメインの1つ以上は、CD38の発現が上昇した細胞、例えば多発性骨髄腫細胞において補体依存性細胞傷害(CDC)および抗体依存性細胞傷害(ADCC)を誘導するために使用され得る、組成物、例えば抗体に含まれる。

【0128】

E．抗CD38結合ドメインの組成物

本明細書に概説されるように、本発明の抗CD38結合ドメインは、異なるフォーマットで、例えば、scFvとして、または従来の四量体抗体に含まれるFabとして使用することができる。

【0129】

1．抗CD38結合ドメインを含むscFv

いくつかの実施形態において、組成物は、本明細書に記載の抗CD38結合ドメインを含

10

20

30

40

50

む s c F v を含む。s c F v は、ヒトおよびカニクイザル C D 3 8 に結合し、s c F v リンカーによって連結された重鎖可変領域 (V H) および軽鎖可変領域 (V L) を含む。V L および V H は、例えば N 末端から C 末端への「V H - s c F v リンカー - V L」または「V L - s c F v リンカー - V H」のいずれかの配向であり得る。

【 0 1 3 0 】

任意の適切なリンカーを使用することができるが、多くの実施形態は、例えば 1 5 残基 (G l y 4 S e r)₃ ペプチド (配列番号 3 2) を含むグリシン - セリンポリマーを利用する。非共有多価構造の形成に使用し得る適切な s c F v リンカーとしては、例えば、G G S (配列番号 3 3)、G G G S (配列番号 3 4)、G G G G S (配列番号 3 5)、G G G G S G G G (配列番号 3 6)、G G S G G G G (配列番号 3 7)、ならびに G S T S G G G S G G G S G G G G S S (配列番号 3 8) または各ドメインがその生物学的機能を保持することを可能にするのに十分な長さおよび可撓性を有する重鎖可変領域および軽鎖可変領域の組換え結合を可能にする任意のペプチド配列が挙げられる。

10

【 0 1 3 1 】

可変長のリンカーを本発明で使用することができる。いくつかの実施形態において、1 から 5 0 アミノ酸長のリンカーが使用される。いくつかの実施形態において、3 から 1 2 アミノ酸長のリンカーが使用され、得られる s c F v モノマーは、自己会合のために多量体またはオリゴマー (例えば、ダイアポディ、トリアポディ、およびテトラポディ) を形成する傾向があり、大部分の形態は二量体である。いくつかの実施形態において、5 アミノ酸長のリンカー、例えば G G G G S (配列番号 3 5) が使用され、ダイアポディを A B D から形成することができる。いくつかの実施形態において、1 2 より長い (例えば、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、または 2 0) アミノ酸長のリンカーが使用され、得られる s c F v は、主にモノマーを形成し、少数の画分のみが自発的多量体化を受け得る。いくつかの実施形態において、1 から 3 アミノ酸のリンカーが使用され、これらは、二量体形態を上回る高次構造、例えば三量体および / または三量体と四量体との混合物への s c F v の多量体化を促進する。

20

【 0 1 3 2 】

s c F v の多量体化も本発明に含まれる。これは、共有結合または非共有結合のいずれかである分子工学戦略、例えば、一本鎖タンデム配置を含む共有結合戦略、システイン介在性のジスルフィド結合安定化多量体を含む共有結合戦略、および / または二量体化ドメイン、リンカー選択および / または可変ドメイン順序を含む非共有結合戦略によって制御され得る。複数の戦略 (例えば、リンカー関連非共有結合多量体化および共有結合ジスルフィド結合安定化) を組み合わせ、s c F v 多量体を作製 (g e n e a r a t e) することができる (例えば、L u D ら、J I m m u n o l M e t h o d s 2 7 9 : 2 1 9 - 3 2 (2 0 0 3) を参照されたい)。

30

【 0 1 3 3 】

いくつかの実施形態において、本発明は、C D 3 8 T M 1、C D 3 8 T M 2、C D 3 8 T M 3、C D 3 8 T M 4、C D 3 8 T M 5 および C D 3 8 T M 6 からなる群から選択される V H ドメインおよび V L ドメインを含む、可変重および可変軽ドメインを含む A B D を提供する。いくつかの実施形態において、A B D は s c F v のフォーマットである。V H および V L ドメインは、5 アミノ酸 s c F v リンカー、例えば G G G G S (配列番号 3 5) によって連結され、N 末端から C 末端へ「V H - s c F v リンカー - V L」または「V L - s c F v リンカー - V H」を形成する。ダイアポディは、そのような A B D から形成することができる。例示的な s c F v の X 線構造の図を図 1 2 に示す。この s c F v は、C D 3 8 T M 4 由来の V H および V L、ならびに s c F v リンカー G G G G S (配列番号 3 5) を含み、ダイアポディ構造を形成する。

40

【 0 1 3 4 】

2 . 抗 C D 3 8 結合ドメインを含む抗体

いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、C D 3 8 T M 1、C D 3 8 T M 2、C D 3 8 T M 3、C D 3 8 T M 4、C D 3 8 T M 5 および C D 3 8 T M 6 を含む、A B D を

50

形成する本発明の可変重および可変軽ドメインを含む従来の四量体抗体である。一般的に、これらのVHとVLとの対は、ヒトおよび変異体ヒトIgG1、IgG2およびIgG4の重鎖定常ドメイン(CH1 - ヒンジ - CH2 - CH3)に付加され、その配列は図10に示され、ラムダまたはカッパの軽鎖定常ドメイン(CL)もまた図10に示される。いくつかの実施形態において、本発明は、本明細書に記載される抗CD38結合ドメインを含むFabを含む組成物を提供する。重鎖可変領域(vhCDR1、vhCDR2およびvhCDR3を含む)のC末端は、重鎖のCH1ドメインのN末端に結合しており、軽鎖可変領域(vlCDR1、vlCDR2およびvlCDR3を含む)のC末端は、軽鎖定常ドメインのN末端に結合している。定常ラムダまたはカッパドメインのいずれか、ならびに本明細書に記載のCH1ドメインおよび軽鎖定常ドメインの変異体を本発明において使用することができる。

10

【0135】

適切な重鎖定常ドメインとしては、図10に示すものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0136】

いくつかの実施形態において、抗体は、CD38TM1のVHおよびVLを有する重鎖(VH - CH1 - ヒンジ - CH2 - CH3)を含む。これらの実施形態において、定常重ドメインは、図10に示すように、ヒトおよび変異体IgG1、IgG2およびIgG4に由来し得る。

【0137】

いくつかの実施形態において、VH(配列番号9)は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49または50からなる群から選択され重鎖定常領域により作製され、VL(配列番号13)は、配列番号51および52から選択される定常軽ドメインにより作製される。

20

【0138】

いくつかの実施形態において、抗体は、CD38TM2のVHおよびVLを有する重鎖(VH - CH1 - ヒンジ - CH2 - CH3)を含む。これらの実施形態において、定常重ドメインは、図10に示すように、ヒトおよび変異体IgG1、IgG2およびIgG4に由来し得る。

【0139】

いくつかの実施形態において、VH(配列番号17)は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49または50からなる群から選択される重鎖定常領域により作製され、VL(配列番号21)は、配列番号51および52から選択される定常軽ドメインにより作製される。

30

【0140】

いくつかの実施形態において、抗体は、CD38TM3のVHおよびVLを有する重鎖(VH - CH1 - ヒンジ - CH2 - CH3)を含む。これらの実施形態において、定常重ドメインは、図10に示すように、ヒトおよび変異体IgG1、IgG2およびIgG4に由来し得る。

【0141】

いくつかの実施形態において、VH(配列番号1)は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49または50からなる群から選択される重鎖定常領域により作製され、VL(配列番号5)は、配列番号51および52から選択される定常軽ドメインにより作製される。

40

【0142】

いくつかの実施形態において、抗体は、CD38TM4のVHおよびVLを有する重鎖(VH - CH1 - ヒンジ - CH2 - CH3)を含む。これらの実施形態において、定常重ドメインは、図10に示すように、ヒトおよび変異体IgG1、IgG2およびIgG4に由来し得る。

【0143】

50

いくつかの実施形態において、VH（配列番号1）は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49または50からなる群から選択される重定常領域により作製され、VL（配列番号25）は、配列番号51および52から選択される定常軽ドメインにより作製される。

【0144】

いくつかの実施形態において、抗体は、CD38TM5のVHおよびVLを有する重鎖（VH-CH1-ヒンジ-CH2-CH3）を含む。これらの実施形態において、定常重ドメインは、図10に示すように、ヒトおよび変異体IgG1、IgG2およびIgG4に由来し得る。

【0145】

いくつかの実施形態において、VH（配列番号53）は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49または50からなる群から選択される重定常領域により作製され、VL（配列番号57）は、配列番号51および52から選択される定常軽ドメインにより作製される。

【0146】

さらなる置換を、以下に概説するように抗体のFc領域に導入することができる。

【0147】

3. 融合タンパク質への包含

いくつかの実施形態において、本発明の抗CD38結合ドメインは、例えば図9に示すように、米国特許出願第14/774,130号、同第14/965,882号、同第15/114,487号、同第15/114,474号、同第15/125,126号、同第15/125,142号および同第15/317,892号および、米国仮出願第62/795,633号、第62/945,107号および第62/945,106号に一般的に記載されるように融合タンパク質に含まれ得る。

【0148】

4. 抗体工学

抗CD38結合ドメインおよびそのような抗CD38結合ドメインを含む組成物は、アミノ酸置換によってアミノ酸配列を変化させるように改変または操作することができる。本明細書で論じるように、アミノ酸置換は、タンパク質（例えば、ヒトおよび/またはカニクイザルCD38、結合の上昇および低下の両方を含む）に対するCDRの親和性を変化させるために、ならびに抗原結合ドメインおよび抗体のさらなる機能的特性を変化させるために行うことができる。

【0149】

さらに、いくつかの実施形態において、抗体のFc領域は、典型的には、抗体の1つ以上の機能的特性、例えば血清半減期、補体固定、Fc受容体結合、および/または抗原依存性細胞傷害性を変更するための改変を含むように操作し得る。さらに、本発明の少なくともいくつかの実施形態による抗原結合ドメインおよび抗体は、化学的に改変しても（例えば、1つ以上の化学部分を抗原結合ドメインおよび抗体に結合させることができる）、またはそのグリコシル化を変化させるために、または抗原結合ドメインおよび抗体の1つ以上の機能的特性を変化させるように改変してもよい。そのような実施形態を以下でさらに説明する。Fc領域中の残基の番号付けは、KabatのEUインデックスの番号付けである。

【0150】

一実施形態において、ヒンジ領域は、ヒンジ領域内のシステイン残基の数が変更される、例えば増加または減少するように改変される。このアプローチは、Bodmerらによる米国特許第5,677,425号にさらに記載されている。CH1のヒンジ領域内のシステイン残基の数は、例えば、軽鎖および重鎖の組み立てを容易にするために、または抗体の安定性を上昇または低下させるために変更される。

【0151】

さらに他の実施形態において、抗体は、特にIgG4定常ドメインが使用される場合、イ

10

20

30

40

50

ンビボFabアーム交換を無効にするように改変され得る。具体的には、このプロセスは、機能的に一価である二重特異性抗体を効果的にもたらす他のIgG4抗体間のIgG4半分子（1つの重鎖+1つの軽鎖）の交換を含む。重鎖のヒンジ領域および定常ドメインへの変異は、この交換を無効にすることができる（Albers et al., 2002, Immunology 105: 9-19を参照のこと）。本明細書で概説されるように、本発明において特定の用途が見出される変異は、IgG4定常ドメインの状況におけるS241P（Kabata番号付け、S228P EU番号付け）である。IgG4は本発明において用途が見出されているが、これは、有意なエフェクター機能を有さず、そのために細胞枯渇なしにそのリガンドへの受容体結合を遮断するために使用されるためである。

10

【0152】

いくつかの実施形態において、一般的にFcR受容体への結合を変化させるために、Fc領域においてアミノ酸置換を行うことができる。1つ以上のFcR受容体への結合を変化させるために行うことができる有用なFc置換が多数存在する。結合の上昇ならびに結合の低下をもたらす置換が有用であり得る。例えば、FcRIIIaへの結合の上昇は、一般的に、ADCCの増加をもたらす（抗体依存性細胞介在性細胞傷害；FcRを発現する非特異的細胞傷害性細胞が標的細胞上の結合した抗体を認識し、続いて標的細胞の溶解を引き起こす細胞介在反応。同様に、FcRIIb（阻害性受容体）への結合の低下も、状況によっては有益であり得る。本発明において用途が見出されるアミノ酸置換としては、米国特許出願公開第11/124,620号（特に図41）および米国特許第6,737,056号に列挙されているものが挙げられ、これらはともに、その全体、具体的にはそこに開示されている変形について、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

20

【0153】

さらに他の例において、Fc領域は、抗体依存性細胞傷害（ADCC）を介在する抗体の能力を上昇させるため、および/またはFcRnに対する抗体の親和性を上昇させるため、および/またはFcRn結合を上昇させるために、以下の位置の1つ以上のアミノ酸を改変することによって改変される：238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438または439。このアプローチは、PrestaによるPCT国際出願公開第00/42072号にさらに記載されている。さらに、FcRI、FcRII、FcRIIIおよびFcRnについてのヒトIgG1上の結合部位がマッピングされ、結合が改善された変異体が記載されている（Shields, R.L.ら（2001）J. Biol. Chem. 276: 6591-6604）。位置256、290、298、333、334および339における特異的な突然変異は、FcγRIIIへの結合を改善することが示されている。さらに、以下の組み合わせ変異体は、FcRIII結合を改善することが示されている：T256A/S298A、S298A/E333A、S298A/K224AおよびS298A/E333A/K334A。さらに、M252Y/S254T/T256EまたはM428L/N434Sなどの突然変異は、FcRnへの結合を改善し、抗体循環半減期を増大させる（Chan et al. and Carter PJ（2010）Nature Rev Immunol 10: 301-316参照）。

30

40

【0154】

さらに、本発明の抗体は、その生物学的半減期を増大させるように改変される。種々のアプローチが可能である。例えば、以下の変異：T252L、T254S、T256Fの1つ以上を、Wardによる米国特許第6,277,375号に記載するように導入するこ

50

とができる。あるいは、生物学的半減期を増大させるために、抗体をC H 1またはC L領域内で、P r e s t aらによる米国特許第5, 869, 046号および第6, 121, 022に記載されているように、I g GのF c領域のC H 2ドメインの2つのループから得られるサルベージ受容体結合エピトープを含むように変化させることができる。血清半減期を増大させるためのさらなる変異は、米国特許第8, 883, 973号、第6, 737, 056号および第7, 371, 826号に開示されており、428L、434A、434Sおよび428L/434Sを含む。

【0155】

さらに他の実施形態において、抗体のグリコシル化が改変される。例えば、非グリコシル化抗体を作製することができる（すなわち、抗体はグリコシル化を欠く）。グリコシル化は、例えば、抗原に対する抗体の親和性を上昇させるため、またはA D C Cなどのエフェクター機能を低下させるために変更することができる。そのような炭水化物改変は、例えば、抗体配列内のグリコシル化の1つ以上の部位、例えばN 297を改変することによって達成することができる。例えば、1つ以上のアミノ酸置換を行うことができ、その結果、1つ以上の可変領域フレームワークグリコシル化部位が除去され、それによってその部位でのグリコシル化が除去され、いくつかの実施形態においてアラニン置換の用途が見出されている。

10

【0156】

追加的または代替的に、グリコシル化のタイプが変化した抗体、例えば、フコシル残基の量が減少した低フコシル化抗体または二等分G l c N a c構造が増大した抗体を作製することができる。そのような変化したグリコシル化パターンは、抗体のA D C C能力を上昇させることが実証されている。そのような炭水化物改変は、例えば、変化したグリコシル化機構を有する宿主細胞において抗体を発現させることによって達成することができる。変化したグリコシル化機構を有する細胞は、当技術分野において記載されており、本発明の少なくともいくつかの実施形態による組換え抗体を発現し、それによってグリコシル化が変化した抗体を産生する宿主細胞として使用することができる。例えば、米国特許出願公開第20040110704号および国際公開第2003/035835号を参照されたい。

20

【0157】

本発明によって企図される本明細書中の抗体の他の改変は、例えば半減期を高めるための、P E G化または他の水溶性部分、典型的にはポリマーの付加である。抗体は、当該分野で公知のように、例えば抗体の生物学的（例えば、血清）半減期を上昇させるためにP E G化することができる。

30

【0158】

F c Rおよび/またはF c R nに対する結合親和性を変化させ、および/またはインビボ血清半減期を増大させるために行われる置換に加えて、以下にさらに詳細に記載されるように、さらなる抗体改変を行うことができる。

【0159】

いくつかの場合、親和性成熟が行われる。C D Rのアミノ酸改変は、「親和性成熟」と称する場合もある。「親和性成熟」抗原結合ドメインまたは抗体は、1つ以上のC D Rに1つ以上の変化（複数可）を有するものであり、これは、それらの変化（複数可）を有しない親と比較して、抗原に対する抗原結合ドメインまたは抗体の親和性の改善をもたらす。場合によっては、抗原に対する抗体の親和性を低下させることが望ましい場合がある。親和性成熟は、抗原に対する抗原結合ドメインまたは抗体の結合親和性を、「親」抗体と比較して少なくとも約10%から50 - 100 - 150%以上、または1から5倍上昇させるために行うことができる。好ましい親和性成熟抗原結合ドメインまたは抗体は、抗原に対してナノモルまたはさらにはピコモルの親和性を有するであろう。親和性成熟抗体は公知の手順によって作製される。

40

【0160】

いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸改変が、本発明のC D 38結合ドメイ

50

ンのCDRの1つ以上において行われる。一般的に、1、または2、または3つのアミノ酸のみが任意の単一CDRにおいて置換され、一般的に、6つのCDRのセット（例えば、vhCDR1-3およびvlCDR1-3）内で、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10以下の変更が行われる。しかしながら、任意のCDR中において、置換なし、1、2または3個の置換の任意の組み合わせは、独立して、および場合によって他の任意の置換と組み合わせることができることを理解されたい。

【0161】

あるいは、「サイレント」である、例えば抗原に対する抗原結合ドメインまたは抗体の親和性を有意に変化させない、本発明のCD38結合ドメインのCDRの1つ以上におけるアミノ酸改変を行うことができる。これらは、（本発明の抗原結合ドメインまたは抗体をコードする核酸に対して行うことができるように）発現を最適化することを含む、多数の理由のために行うことができる。

10

【0162】

F. 抗体をコードする核酸

抗CD38結合ドメインをコードする核酸組成物および、そのような抗原結合ドメインを含む組成物、ならびに核酸を含む発現ベクター、および核酸および/または発現ベクター組成物で形質転換された宿主細胞も提供される。当業者には理解されるように、本明細書に示すタンパク質配列は、遺伝コードの縮重のために、任意の数の可能な核酸配列によってコードされ得る。

【0163】

抗CD38結合ドメインを含む組成物をコードする核酸組成物は、組成物のフォーマットに依存する。2つの重鎖および2つの軽鎖を含む従来の四量体抗体は、1つが重鎖をコードし、1つが軽鎖をコードする2つの異なる核酸によってコードされている。これらは、当技術分野で知られているように、宿主細胞に形質転換された単一の発現ベクターまたは2つの発現ベクターに入れることができ、それらは発現されて本発明の抗体を形成する。いくつかの実施形態において、例えばscFv構築物が使用される場合、重鎖可変領域-リンカー-軽鎖可変領域をコードする単一の核酸が一般的に使用され、これは宿主細胞への形質転換のために発現ベクターに挿入することができる。核酸は、シグナルおよび分泌配列、調節配列、プロモータ、複製起点、選択遺伝子などを含むがこれらに限定されない適切な転写および翻訳制御配列を含む発現ベクターに入れることができる。

20

30

【0164】

本発明の少なくともいくつかの実施形態による組換え抗体を発現させるための好ましい哺乳動物宿主細胞としては、チャイニーズハムスター卵巣（CHO細胞）、PER.C6、HEK293および当技術分野で公知の他のものが挙げられる。

【0165】

scFv遺伝子を作製するために、VHおよびVLをコードするDNA断片は、可撓性リンカーをコードする、例えばアミノ酸配列GGGSおよび本明細書で論じられる他のものをコードする他の断片に動作可能に連結され、VHおよびVL配列が連続した一本鎖タンパク質として発現されることができ、VLおよびVH領域が可撓性リンカーによって連結されるようになっている。

40

【0166】

G. 製剤

前述の方法の実施に使用される治療用組成物は、所望の送達方法に適した担体を含む医薬組成物に製剤化することができる。適切な担体は、治療用組成物と組み合わせた場合に治療用組成物の治療機能を保持し、一般的に患者の免疫系と非反応性である任意の材料を含む。例としては、限定されないが、滅菌リン酸緩衝生理食塩水、静菌水などの多数の標準的な医薬担体のいずれかが挙げられる（一般的に、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th Edition, A.O.Sal., Ed., 1980を参照されたい）。許容される担体、賦形剤または安定剤は、使用される用量および濃度においてレシipientに対して非毒性であり、緩衝液を含み得る。

50

【 0 1 6 7 】

本発明の抗CD38結合ドメインまたは抗体を含む医薬組成物は、限定されないが、静脈内注入を含む任意の適切な投与経路および投与手段のために製剤化され得る。

【 0 1 6 8 】

静脈内注入のために、いくつかの実施形態では、本発明の抗CD38結合ドメインまたは抗体を含む医薬組成物は、極低温保護剤および界面活性剤を含む水性緩衝液中において製剤化される。いくつかの実施形態において、本発明の抗CD38結合ドメインまたは抗体を含む医薬組成物は、極低温保護剤としてのスクロースおよび界面活性剤としてのポリソルベート80を含む水性クエン酸ナトリウム緩衝溶液中において製剤化され、pH 4.8 - 5.2に維持される。いくつかの実施形態において、本発明の抗CD38結合ドメインまたは抗体を含む医薬組成物は、200 mMスクロースおよび0.02% v/vポリソルベート80を含む20 mMクエン酸ナトリウム緩衝液(pH 5.0)中において製剤化される。例示的な製剤を以下に列挙する：

10

【表A】

成分	1 mL当たりの量	機能	
抗CD38結合ドメインまたは抗体を含む組成物	0.50 mg	有効成分	
クエン酸ナトリウム、二水和物	3.82 mg	緩衝剤、コンジュゲート塩基	20
クエン酸、一水和物	1.47 mg	緩衝剤、酸	
スクロース	68.4 mg	極低温保護剤	
ポリソルベート80	0.2 mg	界面活性剤安定剤	
注射用水(WFI)	1 mLまで適量	溶媒	
水酸化ナトリウム	必要に応じてpH 4.8 - 5.2に調整	塩基、pH調整	
塩酸	必要に応じてpH 4.8 - 5.2に調整	酸、pH調整	30

【 0 1 6 9 】

本発明の医薬組成物の製剤は、単位剤形で好都合に示されてよく、薬学の分野で周知の方法のいずれかによって調製し得る。そのような形態において、組成物は、適切な量の有効成分を含む単位用量に分割される。

【 0 1 7 0 】

投与量および投与頻度は、好ましい実施形態において、治療的または予防的に有効であるように選択される。当技術分野で知られているように、タンパク質分解、全身送達対局所送達、および新しいプロテアーゼ合成の速度、ならびに年齢、体重、全体的な健康状態、性別、食事、投与時間、薬物相互作用および症状の重症度についての調整が必要な場合があり、これは当業者による日常的な実験で確認することができる。

40

【 0 1 7 1 】

H. 抗体を使用する方法

本発明の抗CD38結合ドメインおよびそのような抗CD38結合ドメインを含む組成物は、多くの診断および治療用途において使用することができる。

【 0 1 7 2 】

1. 診断用途

本発明の抗CD38結合ドメインおよびそのような抗CD38結合ドメインを含む組成物は、CD38を過剰発現する腫瘍の画像化を含む、CD38発現がんのインビトロまたは

50

インビボ診断において用途を見出すことができる。

【0173】

一般的に、診断はいくつかの方法で行うことができる。一実施形態において、患者由来の組織、例えば生検試料を、抗体が内在性CD38に結合するように、抗CD38抗体と接触、一般的には標識させる。標識からのシグナルのレベルを、同一の患者または参照試料のいずれかからの正常な非がん性組織のレベルと比較して、CD38発現がんの有無を決定する。生検試料は、固形腫瘍、血液試料（リンパ腫および白血病、例えば多発性骨髄腫、ALL、T細胞リンパ腫などについて）由来のものであり得る。一般的に、この実施形態において、抗CD38抗体は、例えば、蛍光光度計または当技術分野で周知の他の光学検出システムを使用して検出される、フルオロフォアまたは他の光学標識により標識される。

10

【0174】

他の実施形態において、標識された二次抗体を、例えば異なる哺乳動物（マウス、ラット、ウサギ、ヤギ等）由来の抗ヒトIgG抗体を使用して試料と接触させて、当技術分野で公知のサンドイッチアッセイを形成する。あるいは、抗CD38抗体を直接標識することができ（すなわち、ビオチン）、検出は当技術分野の標識剤に対する二次抗体によって行うことができる。

【0175】

CD38の過剰発現が見られると、処置は、本明細書に概説するように、本発明による抗CD38抗原結合ドメインまたは抗CD38結合ドメインを含む組成物の投与によって進めることができる。

20

【0176】

他の実施形態において、インビボ診断が行われる。一般的に、この実施形態において、抗CD38抗体（抗体断片を含む）を患者に注射し、画像化を行う。この実施形態において、例えば、抗体は、一般的に、光学標識またはMRI標識、例えばガドリニウムキレート、mAb（断片を含む）の放射性標識により標識される。

【0177】

診断に使用するために特に有用な抗体としては、列挙された抗体、または変異体配列を有するCDRを利用する抗体、または本明細書に記載される抗体のいずれかと結合について競合する抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0178】

多くの実施形態において、診断抗体は標識される。本明細書において「標識」とは、本明細書に開示される抗体が、スクリーニングまたは診断手順における検出を可能にするために結合された1つ以上のエレメント、アイソトープまたは化学化合物を有することを意味する。一般的に、標識はいくつかのクラスに分類される：a)抗体によって認識される融合パートナーとして組み込まれたエピトープであり得る免疫標識、b)放射性または重アイソトープであり得る同位体標識、c)蛍光色素および比色色素、または他の標識方法を可能にするビオチン等の分子を含み得る小分子標識、およびd)身体画像化を可能にする粒子（超音波標識用の気泡を含む）または常磁性標識などの標識。標識は、任意の位置で抗体に組み込まれてもよく、当技術分野で公知のように、タンパク質発現中にインビトロまたはインビボで組み込まれてもよい。

40

【0179】

診断は、インビボにおける以下に記載されるような全身画像化を可能にする診断抗体の投与によって、またはインビトロにおける患者から取り出された試料に対して行われ得る。この文脈における「試料」は、体液（限定されないが、血液、尿、血清、リンパ液、唾液、肛門および膣分泌物、発汗および精液を含む）、ならびに関連組織の生検からの結果などの組織試料を非限定的に含む、任意の数のものを含む。

【0180】

さらに、以下に概説するように、CD38のタンパク質発現レベルに関する情報を使用して、どの抗体を患者に投与すべきかを決定することができる。

50

【 0 1 8 1 】

2. 疾患処置

本発明の抗CD38結合ドメインおよびそのような抗CD38結合ドメインを含む組成物は、それを必要とする対象またはヒト患者においてCD38過剰発現によって介在、調節または他の方法で影響され得る疾患、障害および/または症状を処置する際に特定の用途が見出される。処置は、治療有効量の本発明の抗CD38結合ドメインを含む組成物を対象または患者に投与することを含む。本発明の特定の実施形態の中に、CD38過剰発現に関連するがんまたは免疫障害を処置または予防するための本発明の抗CD38結合ドメインを含む組成物がある。いくつかの実施形態において、本発明の方法を使用して処置される疾患、障害または症状は、多発性骨髄腫等のCD38過剰発現細胞を含む造血癌であり、より一般的には、CD38発現細胞における増殖制御の喪失に関連する症状である。多発性骨髄腫とは別に、CD38はまた、多くの他の造血性悪性腫瘍において、ならびに種々の造血性悪性腫瘍、例えば非ホジキンリンパ腫(NHL)、バーキットリンパ腫(BL)、B慢性リンパ球性白血病(B-CLL)、BおよびT急性リンパ性白血病(ALL)、T細胞リンパ腫(TCL)、急性骨髄性白血病(AML)、有毛細胞白血病(HCL)、ホジキンリンパ腫(HL)および慢性骨髄性白血病(CML)に由来する細胞株において上方制御されている。

10

【 0 1 8 2 】

いくつかの実施形態において、本発明の抗CD38結合ドメインおよび/またはそのような抗CD38結合ドメインを含む組成物は、CD38過剰発現に関連するがんまたは免疫障害、例えば多発性骨髄腫を処置するために、既存の抗CD38抗体、例えばダラツムマブと組み合わせて使用される。いくつかの実施形態において、本発明の抗CD38結合ドメインおよび/またはそのような抗CD38結合ドメインを含む組成物は、CD38過剰発現に関連する患者、例えば多発性骨髄腫患者等であって、抗CD38抗体、例えば、ダラツムマブに既に暴露されている患者を処置するために使用される。いくつかの実施形態において、本発明の抗CD38結合ドメインおよび/またはそのような抗CD38結合ドメインを含む組成物は、CD38過剰発現に関連する患者、例えば多発性骨髄腫患者等であって、既存の抗CD38抗体、例えばダラツムマブによる処置に失敗した患者を処置するために使用される。いくつかの実施形態において、抗CD38結合ドメインおよび/またはそのような抗CD38結合ドメインを含む組成物は、CD38過剰発現に関連する疾患、例えば多発性骨髄腫等を処置するために既存の抗CD38抗体と組み合わせて使用され、ここで、抗CD38結合ドメインは、既存の抗CD38抗体によって結合されるエピトープとは異なるCD38上のエピトープに結合する。

20

30

【 0 1 8 3 】

V. 実施例

本発明はここで一般的に説明されており、本発明の特定の態様および実施形態の例示の目的のためだけに含まれ、本発明を限定することを意図するものではない以下の実施例を参照することによってより容易に理解されるであろう。

【 0 1 8 4 】

A. 実施例1: 抗CD38抗原結合クローンはヒトおよびカニクイザルCD38に結合する

40

1. 抗CD38抗原結合クローンはCD38を発現する細胞に結合する

抗CD38抗原結合クローンをヒトIgG1にフォーマット化し、CD38タンパク質に対するそれらの結合をアッセイした。ヒトCD38を発現するヒト多発性骨髄腫細胞MOLP-8および組換えカニクイザルCD38を発現する細胞を、抗CD38抗体または二次抗体のみの対照と100nMの濃度でインキュベーションした。CD38に対する抗体結合を、フルオロフォアコンジュゲート抗ヒトIgG二次抗体を使用して検出した。次いで、細胞をフローサイトメトリーによって分析し、二次抗体のみの対照と比較して、抗CD38抗体の平均蛍光強度(MFI)を使用してバックグラウンド対比倍率(FOB)を算出した。抗CD38結合クローンは、ヒトおよびカニクイザルCD38の両方に結合し

50

、クローンCD38TM3、CD38TM1およびCD38TM2、CD38TM5およびCD38TM6からの例示的なデータを表2に示す。

【表2】

表2

クローン	ヒトCD38 (FOB)	カニクイザルCD38 (FOB)
CD38TM3	212.2	528.2
CD38TM1	397.1	1920.1
CD38TM2	39.6	271.6
CD38TM5	550.1	104.5
CD38TM6	104.1	176.1

10

【0185】

2. 抗CD38抗原結合クローンは精製CD38に結合する

精製ヒトおよびカニクイザルCD38分子への抗CD38抗原結合クローンの結合も試験した。抗CD38抗原結合クローンをscFvにフォーマット化し、次いで志賀毒素Aサブユニットに融合させて、CD38を標的とする分子を作製した。各抗CD38scFvについて、重鎖可変領域(VH)を、GGGGSリンカーを介して軽鎖可変領域(VL)のN末端またはC末端のいずれかに融合した。志賀毒素Aサブユニットと融合した参照抗CD38結合クローン(CD38標的参照分子番号1-SLTAまたはCD38TR1-SLTA)、ならびにCD38TM3の軽鎖フレームワーク領域にアミノ酸置換を含み、プロテインLクロマトグラフィーによる精製が可能になっている、志賀毒素Aサブユニットに融合した改変抗CD38結合クローンCD38TM4も試験に含めた。試験した抗CD38/志賀毒素融合タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号40(CD38TM1-SLTA)、配列番号41(CD38TM2-SLTA)、配列番号42(CD38TM3-SLTA)、配列番号43(CD38TM4-SLTA)および配列番号44(CD38TR1-SLTA)である。

20

30

【0186】

簡潔には、Nunc maxisorpプレートを、PBS中の組換えヒトまたはカニクイザルCD38によって4で一晚コーティングした。ウェルを洗浄して、ブロッキングし、次いで、CD38を標的とする分子の段階希釈物とインキュベーションした。ウェルに結合したCD38を標的とする分子を、志賀毒素ドメインを検出するマウスモノクローナル抗体、次いで抗マウスセイヨウワサビペルオキシダーゼ(HRP)コンジュゲート二次抗体を含む2段階法によって検出した。HRP活性はUltra TMB ELISA Substrate (Thermo Fisher)によって検出し、吸光度を450nmで読み取った。

【0187】

抗CD38抗原結合クローンCD38TM1、CD38TM2、CD38TM3およびCD38TM4は、ヒトおよびカニクイザルCD38の両方に結合する。対照的に、CD38TR1はヒトCD38にのみ結合する。それぞれの抗CD38結合クローンの結合は、図2A-図3B、図3A-図3Bに示さるよう志賀毒素Aサブユニット(SLTA)へのScFV融合のフォーマットで試験された。CD38TM4は、それが由来するCD38TM3のCD38結合容量を保持する。抗CD38抗原結合クローンの結合親和性を算出し、表3に示した。

40

50

【表 3】

表 3.

CD38を標的とする分子	CD38結合の K_D (ng/mL)	
	ヒトCD38	カニクイザルCD38
CD38TM2-SLTA	10.6	644
CD38TM3-SLTA	13.3	247
CD38TM4-SLTA	16.4	670
CD38標的参照番号1 (CD38TR1)-SLTA	7.7	結合なし

10

【0188】

B. 実施例 2 : 抗CD38結合クローンの親和性決定

細胞結合親和性アッセイを実施して、CD38発現細胞に対する抗CD38結合クローンの結合親和性を定量した。ヒトCD38を発現するMOLP-8細胞を、約200万細胞/mLの生存細胞濃度で1% FBS/PBSに懸濁した。IgG1にフォーマット化された抗CD38結合クローンを、PBS中で、6ウェルプレート上のウェル間で段階希釈した(102 nMから24.95 pMまでの2倍希釈)。各滴定の最後のウェルはPBSのみを含有した。次いで、各ウェルが採集体積300 μ Lおよび約100,000個の細胞を含むように、細胞懸濁液および追加のPBSを各ウェルに添加した。プレートをプレートシェーカーに4で5時間置いた後、各ウェル中の細胞をPBSによって4で3回洗浄した。次いで、200 μ Lの99 nM Cy5ヤギ抗ヒトIgG Fc特異的ポリクローナル抗体(Jackson ImmunoResearch Laboratories、#109-175-008)を各ウェルに添加し、プレートを4で30分間振盪した。細胞をPBSにより4で再び2回洗浄し、次いで、FACS Canto(商標)II HTSフローサイトメーターによって分析した。固有の抗体濃度を含む各ウェルについて、5000イベントの平均蛍光強度(MFI)を測定し、抗体濃度の関数としてMFIのプロットを、以下の式を使用してScientist 3.0ソフトウェアを用いて非線形的にフィッティングさせて、抗原結合親和性 K_D を推定した： $F = p [(K_D + LT + n(M)) - \{ (K_D + LT + n(M))^2 - 4n(M)(LT) \}^{1/2}] / 2 + B$

20

30

式中、FはMFIであり、LTは抗体分子濃度の2倍に相当する総抗体結合部位濃度であり、pは任意の蛍光単位を結合抗体に関連付ける比例定数であり、Mはモル濃度での細胞濃度であり、300 μ L中の100,000個の細胞に基づいて0.553 fMで表され、nは細胞あたりの受容体の数であり、Bはバックグラウンドシグナルであり、 K_D は平衡解離定数である。

【0189】

各抗体滴定曲線について、P、n、Bおよび K_D が非線形分析で自由に変動したため、 K_D の推定値を得た。上記の式の詳細な導出については、Drake and Klakamp(2007)、『A rigorous multiple independent binding site model for determining cell-based equivalence dissociation constants』、J. Immunol. Methods 318:157-62を参照されたい、これは参照により本明細書に組み込まれる。表4は、抗CD38抗体クローンについて測定された K_D を列挙している。非線形曲線フィッティングには、抗体結合部位濃度(2x分子濃度)を用いた。

40

50

【表 4】

表 4

クローン	K_D (M)
CD38TM3	1.9×10^{-9}
CD38TM1	3.2×10^{-8}
CD38TM2	3.4×10^{-8}
CD38TM5	3.4×10^{-8}
CD38TM6	4.6×10^{-9}

10

【0190】

C. 抗CD38抗原結合クローンのエピトープマッピング

抗CD38抗原結合クローンによってCD38細胞外ドメイン(ECD)上の接触残基を同定するために、Integral Molecularによってエピトープマッピングを行った。エピトープを、必要に応じてヒト残基からカニクイザル残基にアミノ酸を変更するためにアラニンスキャニングおよび追加の変異を用いた標準的なアッセイ設定であるショットガン突然変異誘発によってマッピングした。簡潔には、野生型または変異ヒトCD38ECDをHEK293細胞の細胞表面に発現させ、次いで、特定のアミノ酸を変異させた場合の、目的の抗CD38抗原結合クローンがCD38ECDに結合する能力を、フローサイトメトリーによって同一の抗CD38抗原結合クローンの野生型CD38ECDへの結合と比較した。アッセイを、CD38も標的とする一連の対照分子により分子の発現または一般的な折り畳みに影響を及ぼす突然変異について制御した。表5は、特定の突然変異を有する表面発現CD38 ECDタンパク質への結合を、野生型CD38への結合のパーセンテージとして示す。太字でマークされた値は、抗CD38抗原結合クローンの結合および表面アクセス可能性に重要なアミノ酸(公開されたCD38構造に基づく)を示す。

20

30

40

50

【表 5】

表 5.

ヒトCD38 ECD		CD38TM 1	CD38TM 2	CD38TM 4	CD38 TM3	CD38TR 1	ZZ
アミノ酸位置	変異	野生型の平 均%	野生型の平 均%	野生型の平 均%	野生型の 平均%	野生型の平 均%	野生型の 平均%
78	R78A	2%	3%	106%	130%	80%	52%
81	D81A	8%	9%	109%	143%	128%	292%
119	C119A	108%	108%	12%	26%	83%	85%
124	L124A	84%	92%	23%	43%	259%	169%
201	C201A	90%	58%	4%	5%	130%	109%
2	F216A	89%	74%	18%	29%	25%	140%
230	L230A	72%	111%	7%	19%	17%	64%
254	C254A	48%	81%	7%	38%	46%	67%
262	L262A	68%	97%	12%	32%	33%	83%
272	Q272A	145%	135%	68%	119%	191%	167%
272	Q272R	105%	101%	71%	106%	14%	162%
273	F273A	157%	117%	89%	135%	10%	197%
274	S274F	93%	134%	101%	89%	155%	27%
274	S274F	150%	124%	80%	139%	74%	14%
275	C275A	18%	37%	0.3%	17%	14%	18%

10

20

30

40

50

【0191】

抗CD38抗原結合クローンCD38TM1およびCD38TM2は、ヒトCD38上の同一の重要な接触残基（R78およびD81）を共有する。ヒトCD38上のCD38TM5の重要な残基としては、R78、H79およびD81が挙げられる（データは示さない）。ヒトCD38上のCD38TM3の重要な残基としては、F216、L262、L124、C201、L230、C254およびS275が挙げられる。ヒトCD38上のCD38TM4の重要な残基としては、F216、L262、C201、L230、C254およびS275が挙げられる。図4は、赤色で示される表面接触可能な接触残基F216、L262、紫色で示される重要な構造残基L124、C230、および灰色で示されるジスルフィド対に関与する重要な構造残基C119/C201およびLC254/C275を含む、CD38TM3の重要な残基の位置を示す。

【0192】

CD38TM1、CD38TM2およびCD38TM5は、ダラツムマブと比較して、ヒトCD38上の重複しないエピトープ残基に結合する。CD38TM6は、ヒトCD3

8上のダラツムマブと重複するエピトープ残基に結合する。CD38TM3およびCD38TM4は、ヒトCD38上のCD38TR1およびダラツムマブと部分的に重複するエピトープに結合する。CD38TR1は、ヒトCD38上のF216、L262、Q272およびF273を含むエピトープに結合する。ダラツムマブは、ヒトCD38上のF274およびF275を含むエピトープに結合する。

【0193】

クローンCD38TM4および/またはCD38TM3は、ヒトCD38上の参照分子CD38TR1およびおそらくダラツムマブと部分的に重複するエピトープに結合する。図4は、ヒトCD38上のCD38TM4の重要な残基の位置(赤色で示される表面接触可能な残基F216、L262;紫色で示される重要な構造残基L124、C201、および灰色で示されるジスルフィド対に關与する重要な構造残基C119/C201およびLC254/C275)を示す。

10

【0194】

ダラツムマブ、HB-7(Santa Cruz、カタログ番号:sc-18858)、AT13-5(Thermo Fisher、カタログ番号:MA5-16578)およびOKT-10(Sigma、カタログ番号87021903)を含む既存のCD38抗体の存在下におけるCD38に対する抗CD38抗原結合クローンの結合を試験した。CD38TM2、CD38TM1およびCD38TM3を上記のようにscFvにフォーマット化し、志賀毒素Aサブユニットに融合した。MOLP-8細胞を、20μg/mlの既存の抗CD38抗体(約130nM)または対照分子(志賀毒素Aサブユニット単独)とともに70分間インキュベーションした。次いで、0.5μg/mlの抗CD38/志賀毒素融合分子(約5nM)を添加し、細胞とともに48時間インキュベーションした。CD38への抗体結合を、志賀毒素Aサブユニットを認識する一次抗体、およびFITCコンジュゲート抗IgG二次抗体を使用し、その後、フローサイトメトリーにより検出した。二次抗体のみの対照からのシグナルを差し引いた後、抗CD38抗原結合クローンの平均蛍光強度(MFI)を算出した。

20

【0195】

図5Aおよび図5Bに示すように、scFv-SLTA融合タンパク質フォーマットでのCD38TM1およびCD38TM2は、ダラツムマブ、HB-7、AT13-5、およびOKT-10の存在下でCD38に結合することができ、このことは、これらが、scFv-SLTA融合タンパク質フォーマットでの、ダラツムマブ、HB-7、AT13-5、およびOKT-10によって結合されるエピトープ(複数可)とは異なるCD38上のエピトープに結合することを示している。CD38TM3は、OKT-10の存在下においてCD38に結合することができるが、ダラツムマブ、HB-7およびAT13-5の存在下では結合することができず、このことは、CD38TM3が、OKT-10が結合するエピトープとは異なるCD38上のエピトープに結合し、CD38TM3は、CD38上のエピトープをダラツムマブ、HB-7およびAT13-5と共有または部分的に共有することを示している。

30

【0196】

CD38に対する抗CD38抗原結合クローンの競合的結合も試験した。CD38TM2、CD38TM1およびCD38TM3を上記のようにscFvにフォーマット化し、志賀毒素Aサブユニットに融合した。MOLP-8細胞を、20μg/mlの抗CD38/志賀毒素融合分子(約400nM)または対照分子(志賀毒素Aサブユニット単独)とともに70分間インキュベーションした。次いで、scFv-SLTA融合タンパク質フォーマットで、0.5μg/mlの抗CD38を添加し、細胞とともに48時間インキュベーションした。CD38結合を、志賀毒素Aサブユニットを認識する一次抗体、およびFITCコンジュゲート抗IgG二次抗体、その後、フローサイトメトリーによって検出した。二次抗体のみの対照からのシグナルを差し引いた後に、抗CD38抗原結合クローンの平均蛍光強度(MFI)を計算し、対照として志賀毒素Aサブユニットのみから測定したMFIのパーセンテージとしてプロットした。図5Cおよび図5Dに示されるように、

40

50

CD38TM1およびCD38TM2は、それらがCD38上の同一エピトープに結合するという事実と一致して、競合の様式でCD38に結合する。CD38TM3は、CD38TM1およびCD38TM2と半競合的にCD38に結合する。

【0197】

D. 抗CD38抗体によるCDCおよびADCCの誘導

抗CD38結合クローンをヒトIgG1としてフォーマット化し、補体依存性細胞傷害(CDC)および抗体依存性細胞介在性細胞傷害(ADCC)を誘導するそれらの能力について試験した。

【0198】

CDCアッセイのために、MOLP-8細胞を、50 μ Lの完全培地(10%ウシ胎児血清を補充したRPMI)中で、黒色96ウェル平底組織培養プレートにウェルあたり10,000細胞の密度で播種した。50 μ Lの抗CD38抗体(9 μ g/ml)、対照IgG1抗体(9 μ g/ml)、または培地単独を各ウェルに添加し、室温(RT)で10分間インキュベーションした。様々な量(2-15 μ L)の精製ウサギ補体(カタログ番号CL3441 Cedarlane Laboratories, Canada)を対照ウェルを除いて各ウェルに添加した。37 $^{\circ}$ Cで1時間インキュベーションした後、プレートを室温にし、100 μ Lの細胞力価Cytotox Glo(商標)試薬(Promega G7571/G7573)を各ウェルに添加し、プレートを5から7分間振盪し、EnVision(登録商標)(Perkin Elmer)発光プレートリーダーで発光を読み取った。試験した条件は、細胞単独;細胞+補体;細胞+IgG1対照+補体;細胞+抗体+補体であった。%CDCは、以下の式を使用して計算した: $100 - (RLUT / RLUC) \times 100$ 、式中、RLUTは試験試料の相対発光単位であり、RLUCは補体単独を含む試料の相対発光単位である。アッセイは3つ組で行い、統計解析はPRISMソフトウェアを用いて行った。

【0199】

ADCCの測定には、標的細胞としてMOLP-8細胞を用いた。末梢血単核細胞(PBMC)を、Stanford Blood Center(カリフォルニア州パロアルト)から入手したバフィーコートまたはLRSからのFicoll-Plaque(商標)分離によってエフェクター細胞として単離した。検体をPBS中2% FBSにより1:3に希釈した。15mLのFicoll-Plaque(商標)(GE Healthcare)を35mLの希釈検体の下に静かに重層し、1800rpm(ブレーキオフ)で25分間遠心分離した。PBMCを含有する濁った界面を収集し、2% FBS/PBSで3回洗浄し、10% DMSO/FBS中でアリコートあたり50 \times 10⁶細胞/mLのアリコートに凍結した。使用前に、PBMCの凍結アリコートを解凍し、10% FBS/RPMI+5 ng/ml組換えヒトIL-2(R&D systems #202-IL)中、2 \times 10⁶細胞/mLで一晩培養した。

【0200】

ADCCアッセイのために、全ての工程を完全培地中で行った。ウェルあたり5000個の標的細胞を96ウェルプレートに播種し、50 μ Lの抗CD38抗体(10 μ g/ml)、対照IgG1(10 μ g/ml)、または培地単独を各ウェルに添加した。次いで、50 μ LのヒトエフェクターPBMCを、標的:エフェクター(T:E)細胞について1:25から1:50の比率でウェルに添加した。プレートを800rpmで30秒間短時間遠心分離して、全ての細胞を近接させた。37 $^{\circ}$ Cで4時間インキュベーションした後、プレートを1100rpmで5分間遠心分離し、100 μ Lの上清を白色プレートに移した。100 μ LのCytotox Glo(商標)試薬(Promegaカタログ番号G9292)を上清に添加し、次いで、プレートを室温で20-30分間振盪した。発光をEnVision(登録商標)(Perkin Elmer)発光プレートリーダーで読み取り、特異的溶解のパーセンテージを以下の式を使用して算出した: $(RLUT / RLUE / T) / (RLUL / RLUE / T) \times 100$ 、式中、RLUTは試験試料の相対発光単位であり、RLUE/Tは標的細胞およびエフェクター細胞単独を含有する試料の相

10

20

30

40

50

対発光単位であり、RLULはTriton X-100で溶解した細胞の相対発光単位である。アッセイは3つ組で行い、統計解析はPRISMソフトウェアを用いて行った。

【0201】

抗CD38抗体クローンによって誘導されたCDCおよびADCCのパーセンテージを表6に示す。全ての抗CD38抗体クローンは、CD38発現細胞に対してCDCおよびADCCを誘導することができる。

【表6】

表6

クローン	%CDC (平均)	%ADCC (平均)
CD38T M3	16.3	49.2
CD38T M1	15.0	29.0
CD38T M2	7.2	31.8
CD38T M5	4.7	35.2
CD38T M6	34.3	50.4

10

20

【0202】

E. CD38TM3からのCD38TM4の誘導

CD38TM3のVHおよびVLは、標準的なモノクローナル抗体精製樹脂(プロテインAまたはプロテインL)に結合せず、His-tagおよびIMACカラムを使用して精製した(図11Aは、例としてscFv-SLTA融合タンパク質フォーマットでのCD38TM3の精製を示す)。精製をより容易にするために、ラムダ軽鎖であるCD38TM3の軽鎖を、プロテインLに結合できるようにフレームワーク変異によって改変し、さらなるタグなしでの親和性精製を可能にした。図11Cに示されるように、CD38TM3 VLドメインの最初の21アミノ酸を、CD38TM4のVLドメインを誘導するためのカッパ軽鎖であるCD38TR1のVLドメインの最初の22アミノ酸で置換した。得られたCD38TM4はプロテインLに結合することができ、したがってプロテインLカラムによって精製した(図11Bは、例としてscFv-SLTA融合タンパク質フォーマットでのCD38TM4の精製を示す)。

30

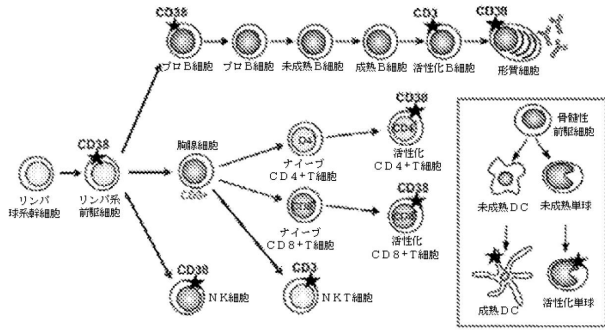
40

50

【 図 面 】

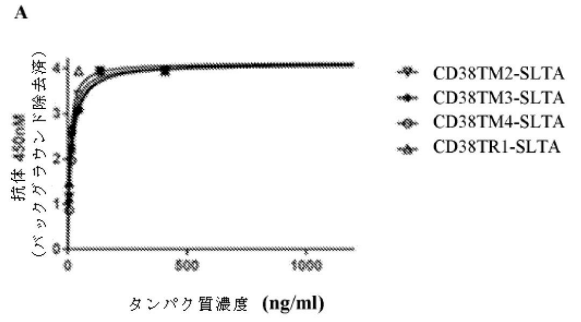
【 図 1 】

【 図 1 】

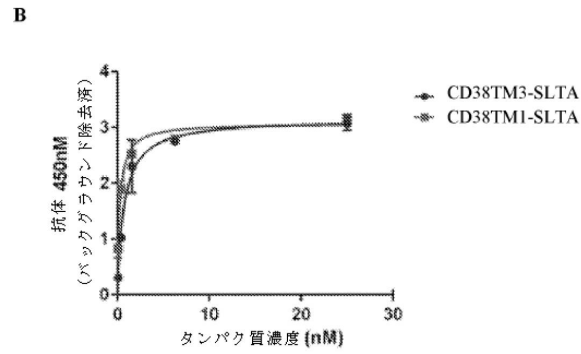


【 図 2 】

【 図 2 】



10

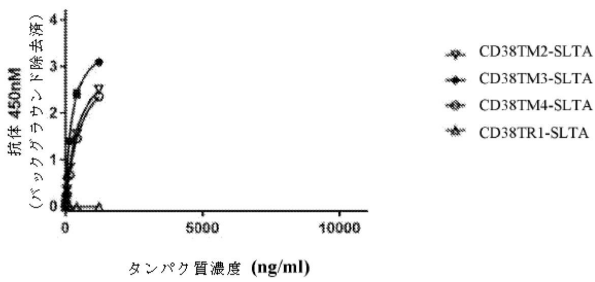


20

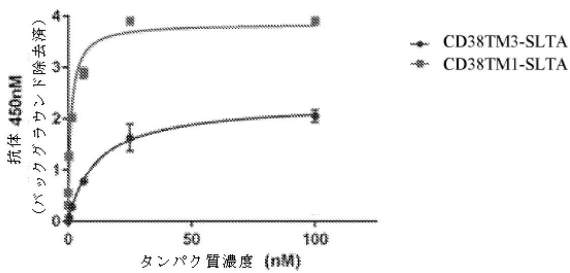
【 図 3 】

【 図 3 】

A

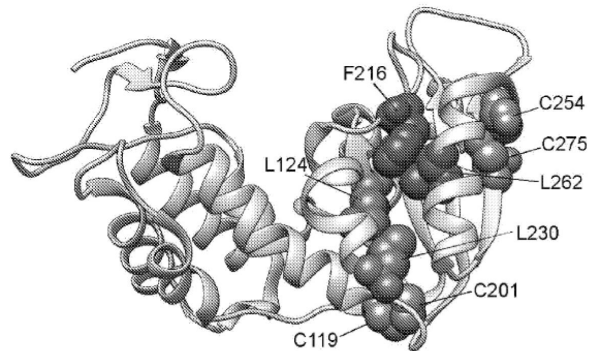


B



【 図 4 】

【 図 4 】

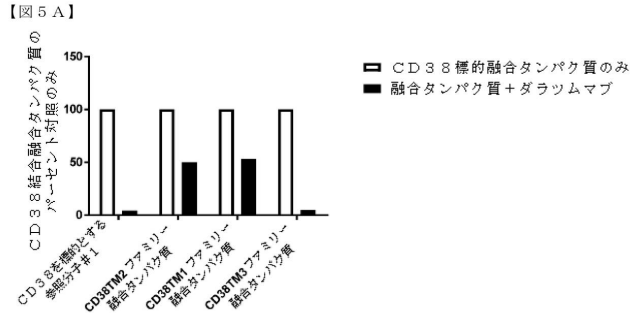


30

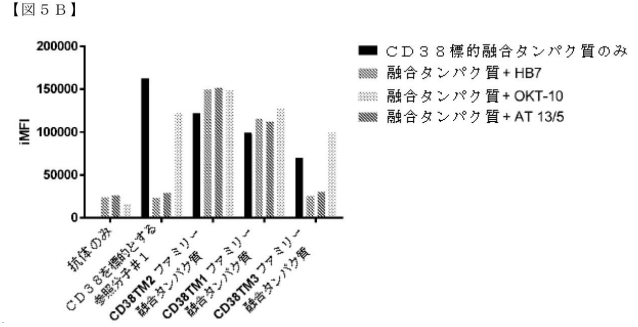
40

50

【 図 5 A 】

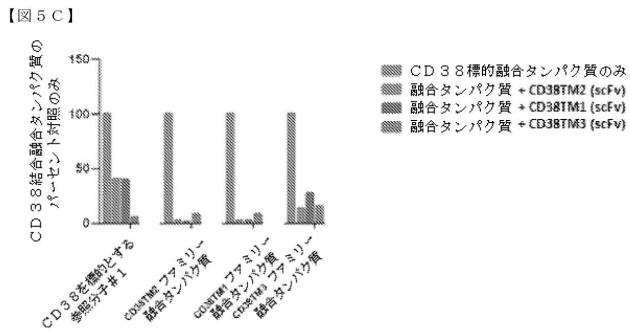


【 図 5 B 】



10

【 図 5 C 】



【 図 5 D 】

【 図 5 D 】

結合	CD38 を標的とする参照分子 #1 融合タンパク質	CD38TM2 ファミリー 融合タンパク質	CD38TM1 ファミリー 融合タンパク質	CD38TM3 ファミリー 融合タンパク質
ダラツムマブ	4%	50%	53%	5%
HB-7	0%	103%	93%	3%
AT13-5	2%	103%	87%	6%
OKT-10	65%	109%	112%	120%
CD38 TM2 (scFv)	41%	3%	3%	14%
CD38 TM1 (scFv)	40%	2%	3%	28%
CD38 TM3 (scFv)	6%	0%	9%	16%

20

【 図 6 A 】

【 図 6 A 】
CD38 を標的とする部分 #3 (CD38TM3)

名称	配列	配列番号
VH ドメイン	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSETSYWJGWVRO MPGKGLEWVMIYPGDSDIRYSPFQGVTSADKISIA YLQWSSLKASDTAMYYCARGPSTGFWSGNYFDYWGQG TLVTVSS	1
vhCDR1	GYSFTSYW	2
vhCDR2	IYPGSDT	3
vhCDR3	ARGPSTGFWSGNYFDY	4
VL ドメイン	QTVVTQEPSTLVSPGETVTLTCASITGAVTSGFYPNWFQ QKPGQAPRALIYATNKKYSWTPARFSGSLLGDKAALTL RVQPEDEADYYCLVYYDGAWVFGGGTKLTVLG	5
vlCDR1	TGAVTSGFY	6
vlCDR2	ATN	7
vlCDR3	LVYYDGAW	8

【 図 6 B 】

【 図 6 B 】
CD38 を標的とする部分 #1 (CD38TM1)

名称	配列	配列番号
VH ドメイン	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN TLYLQMNSLR AEDTAVYYCAREHSNYFYGM DVWGQGT LTVTVSS	9
vhCDR1	GFTFSDYY	10
vhCDR2	ISGSGGST	11
vhCDR3	AREHSNYFYGM DV	12
VL ドメイン	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNIGSNYVYWYQQL PGTAPKLLIYQNSNRPSGVDPDRFSGSKGTSASLAISGLRS EDEADYYCQSYDSSLGSGVFGGGTKLTVLG	13
vlCDR1	SSNIGSNY	14
vlCDR2	GNS	15
vlCDR3	QSYDSSLGSG	16

30

40

【 図 6 C 】

【図 6 C】

C D 3 8 を標的とする部分 #2 (CD38TM2)

名称	配列	配列番号
VH ドメイン	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAREGETSFGLDVWGQGLVTVSS	17
vhCDR1	GFTFSSYW	18
vhCDR2	ISGSGGGT	19
vhCDR3	AREGETSFGLDV	20
VL ドメイン	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNIGGNYVYVYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCQSYDSSLVSVFVGGGTKLTVLG	21
vlCDR1	SSNIGGNY	22
vlCDR2	RNN	23
vlCDR3	QSYDSSLVSV	24

【 図 6 D 】

【図 6 D】

C D 3 8 を標的とする部分 #4 (CD38TM4)

名称	配列	配列番号
VH ドメイン	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSTSYWIGWVRQMPGKGLEWVSAISGSGGGTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQWSSLKASDTAMYYCARGPSTGFVWSGNYFDYWGQGLVTVSS	1
vhCDR1	GYSFSTSYW	2
vhCDR2	IYPGDSDT	3
vhCDR3	ARGPSTGFVWSGNYFDY	4
VL ドメイン	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCASSTGAVTSGFYPNWFQKQPGQAPRALIYATNNKYSWTPARFSGSLLDKAAALTLRVQPEDEADYYCLVYYDGAWVFGGGTKLTVLG	25
vlCDR1	TGAVTSGFY	6
vlCDR2	ATN	7
vlCDR3	LVYYDGAW	8

10

【 図 6 E 】

【図 6 E】

C D 3 8 を標的とする参照分子 #1 (CD38TR1)

名称	配列	配列番号
VH ドメイン	QVQLQESGPGLVPRPQTLSTCTVSGFSLTSYGVHVVVRQPPGRGLEWVGMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGLVTVSS	26
VL ドメイン	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPDRFSGSGSDTDFTFITISLQPEDIATYYCQYQWVSNPYTFGQGTKEIK	27

【 図 6 F 】

【図 6 F】

C D 3 8 を標的とする部分 #5 (CD38TM5)

名称	配列	配列番号
VH ドメイン	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMNVIRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAITEGPPYLYGFDIWGQGLVTVSS	53
vhCDR1	GFTFSDYY	54
vhCDR2	ISSSSSYI	55
vhCDR3	ATEGPPYLYGFDI	56
VL ドメイン	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNIGSNYVYVYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCQSYDNTLSGVIFGGGTKLTVLG	57
vlCDR1	SSNIGSNY	58
vlCDR2	GNS	59
vlCDR3	QSYDNTLSGV	60

20

30

40

50

【 図 6 G 】

【図 6 G】

CD38を標的とする部分 #6 (CD38TM6)

名称	配列	配列番号
VH ドメイン	EVOLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTEFDDYGMTWVR QAPGKLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGFLHFDSSGYYFGHW GGGTLVTVSS	61
vhCDR1	GFTFDDYG	62
vhCDR2	INWNGGST	63
vhCDR3	ARGGLFHDSSGYYFGH	64
VL ドメイン	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNIGNSYVSWYQQL PGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS EDEADYYCSAWDDNLSVLFGGGTKLTVLG	65
vlCDR1	SSNIGNSY	66
vlCDR2	RNN	67
vlCDR3	SAWDDNLSV	68

【 図 7 】

【図 7】

名称	タンパク質配列	配列番号
ヒトCD38	MANCEFSVPSGDKPCCRLSRAAQLCLGVLSILVLLVVV LAVVVPWRWQWVSGPQVTKRFPETVLARCVKYTEIHP EMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKL GTQTVPCNKILLWSRIKDLAQHFTQVQRDMFTLEDLL GYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCSNNPVS FWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRKIFDKNSTFGS VEVHNLQPEKVQTLAEAWVIHGGREDSRDLCDQPTIKE LESIIKRNIFQFCKNIYRDPKFLQCVKNPEDSSCTSEI	28
ヒト細胞外 ドメイン (ECD) CD38	VPRWQWVSGPQVTKRFPETVLARCVKYTEIHP VDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQ VPCNKILLWSRIKDLAQHFTQVQRDMFTLEDLLGYL ADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCSNNPVS KTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRKIFDKNSTFGS VHNLQPEKVQTLAEAWVIHGGREDSRDLCDQPTIKE LESIIKRNIFQFCKNIYRDPKFLQCVKNPEDSSCTSEI	29
カニクイザル CD38	MANCEFSVPSGDKPCCRLSRAAQLCLGVLLVLLILVV VAVVLPWRWQWVSGPQVTKRFPETVLARCVKYTEI HPMRHVDCQSVWDAFKGAFISKYPCNITEEDYQPLV KLGTVPCNKILLWSRIKDLAQHFTQVQRDMFTLED MLLGYLADDLTWCGEFNTFEINYQSCPDWRKDCS NPNVSVFWKTVSRRFAETACGVVHVMLNGSRKIFDK NSTFGSVEVHNLQPEKVQALEAWVIHGGREDSRDL CDQPTIKELESIIKRNIRFFCKNIYRDPKFLQCVKN PEDSSCLSGI	30
カニクイザル 細胞外ドメイン (ECD) CD38	LPRWQWVSGPQVTKRFPETVLARCVKYTEIHP VDCQSVWDAFKGAFISKYPCNITEEDYQPLV VPCNKILLWSRIKDLAQHFTQVQRDMFTLEDMLL GYLADDLTWCGEFNTFEINYQSCPDWRKDCS NPNVSVFWKTVSRRFAETACGVVHVMLNGSRKIFDK NSTFGSVEVHNLQPEKVQALEAWVIHGGREDSRDL CDQPTIKELESIIKRNIRFFCKNIYRDPKFLQCVKN PEDSSCLSGI	31

10

20

【 図 8 】

【図 8】

リンカー配列	配列番号
(GGGG) ₃	32
GGG	33
GGGS	34
GGGGS	35
GGGGSGGG	36
GGSGGGG	37
GSTSGGGSGGGSGGGSS	38

【 図 9 - 1 】

【図 9 - 1】

CD38を標的とする部分-SLTA	配列	配列番号
CD38TM1-SLTA	MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVT GFVNRNTNMFYRFADFSHVTFPGTTAVTLADSSYTTLQ RVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARA MLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLGSASYVMTAE DVDLTLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHASAVA AEFKPKPTPPGSSGGAPQSVLTPQ PSASGTPGQRVTISCSGSSNIGNSYVYVYQQLPGTAPK LIYGNRNQPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEADY YCYSDSSLSGSGVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGGGG GSGGGGGGGGSEVQLESGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDYYMSWVRQAPGKLEWVSAISGGSTYYADS VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREHS NYFYGMVDVWGGTLVTVSS	40
CD38TM2-SLTA	MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVT GFVNRNTNMFYRFADFSHVTFPGTTAVTLADSSYTTLQ RVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARA MLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLGSASYVMTAE DVDLTLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHASAVA AEFKPKPTPPGSSGGAPQSVLTPQ PSASGTPGQRVTISCSGSSNIGNSYVYVYQQLPGTAPK LLIYRNQPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEAD YYCQSYDSSLVSVFVGGGTKLTVLGGGGSEVQLESGL GGVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGL EWVSAISGGGGTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAREGETSFLDVLVWGGTLVTVSS	41
CD38TM3-SLTA	MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVT GFVNRNTNMFYRFADFSHVTFPGTTAVTLADSSYTTLQ RVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARA MLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLGSASYVMTAE DVDLTLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHASAVA AEFKPKPTPPGSSGGAPQVQLVQ SGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGK	42

30

40

【 図 9 - 2 】

【 図 9 - 2 】

	LEWMGHYPGSDSTRYSPSFQGGQVTSADKSISTAYLQWS SLKASDTAMYCYCARGPSTGFWSGNYFDYWGQGLT SSGGGGSQTVVTPQEPSTLVSGETVTLTCASTGAVTSGF YPNWFQKQPGQAPRALIYATNNKYSWTPARFSGLLGD KAALTL.SRVQPEDEADYCYLVYDYGAWVFGGKTLTV LG	
CD38TM4- SLTA	MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNLRILVERNNLYVT GFVNRTNNVYFRFADFHVTFPGTTAVTL.SADSSYTLTQ RVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARA MLRFVTVTAELRFRQIRGFRFTLDDL.SGASVYMTAE DVDLTL.NWGR.LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILN.SHHHASAVAAEFKPKSTPPGSSGGAPQVQLVQ SGAEVKKPGESLKISKCSGYSFTSYWIGVWRQMPGKG LEWMGHYPGSDSTRYSPSFQGGQVTSADKSISTAYLQWS SLKASDTAMYCYCARGPSTGFWSGNYFDYWGQGLT SSGGGGSQTVVTPQEPSTLVSGETVTLTCASTGAVTSG FYPNWFQKQPGQAPRALIYATNNKYSWTPARFSGLLGD KAALTL.SRVQPEDEADYCYLVYDYGAWVFGGKTLTV VLG	43
CD38TR1- SLTA	MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGSGDNLFAVDVVRGIDPEEGRFNLRILVERNNLYVT TGFVNRTNNVYFRFADFHVTFPGTTAVTL.SGDSYTLTQ QRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARA AMLRFVTVTAELRFRQIRGFRFTLDDL.SGRSYVMTAE DVDLTL.NWGR.LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILN.SHHHASAVAAEFKPKSTPPGSSGGAPDIQMTQS PSSLASVGDRTVITTCASEDINRNL.TWYQKPKGAPKL LISGATSLETGVPSPRFSGSGSGTDFTFITISSLQPEDIATYCY QYYWNSPYTFGGQTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGVLRP SQTLSL.TCTVSGFSL.TSYGVHWRVQPPGRGLEWIGVMW RGGSTDYNAAFMSRL.NITKNNSKNQVSLR.LSSVTAADT AVVYCAKSMITGFMVDSWQGGSLTVTVSS	44

【 図 1 0 A 】

【 図 1 0 A 】

ヒト IgG1 空着標識
ASTKGPSVFLAPCSRSSTSESTAALGCLVLDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHHTPAVLQSSGLYSLSVVVTPSSSLGTQTYTC
VNHKPSNTKVDKRVKVEKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSDHEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHODWLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCL
LTKLKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIVDKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSP
GK (配列番号 39)

ヒト IgG1 D265 A 空着標識
ASTKGPSVFLAPCSRSSTSESTAALGCLVLDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHHTPAVLQSSGLYSLSVVVTPSSSLGTQTYTC
VNHKPSNTKVDKRVKVEKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSDHEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHODWLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCL
LTKLKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIVDKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSP
GK (配列番号 45)

ヒト IgG1 N297 A 空着標識
ASTKGPSVFLAPCSRSSTSESTAALGCLVLDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHHTPAVLQSSGLYSLSVVVTPSSSLGTQTYTC
VNHKPSNTKVDKRVKVEKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSDHEPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHODWLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCL
LTKLKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIVDKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSP
GK (配列番号 46)

ヒト IgG2 空着標識
ASTKGPSVFLAPCSRSSTSESTAALGCLVLDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHHTPAVLQSSGLYSLSVVVTPSSSLGTQTYTC
NVLDHPSNTKVDKRVKVEKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSDHEPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHODWLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCL
LTKLKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIVDKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
(配列番号 47)

10

20

【 図 1 0 B 】

【 図 1 0 B 】

ヒト IgG3 空着標識
ASTKGPSVFLAPCSRSSTSESTAALGCLVLDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHHTPAVLQSSGLYSLSVVVTPSSSLGTQTYTC
NVNHKPSNTKVDKRVKVEKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSDHEPEVKFNWYVDGVEVH
SFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSDHEPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHODWLNKGEYKCKVSNK
ALPAPIEKTIKAKGQPREQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (配列番号 48)

ヒト IgG4 空着標識 (野生型)
ASTKGPSVFLAPCSRSSTSESTAALGCLVLDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHHTPAVLQSSGLYSLSVVVTPSSSLGTQTYTCN
VDHKSNTKVDKRVKVEKSGPSPCPAPERLGGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSDHEPEVKFNWYVDGVEVH
AKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHODWLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCL
VKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIVDKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
(配列番号 49)

ヒト IgG4 空着標識 (S 2 4 1 P ヒンジ突然変異)
ASTKGPSVFLAPCSRSSTSESTAALGCLVLDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHHTPAVLQSSGLYSLSVVVTPSSSLGTQTYTCN
VDHKSNTKVDKRVKVEKSGPSPCPAPERLGGPSVFLFPKPKDILMISRTPEVTCVVDVSDHEPEVKFNWYVDGVEVH
AKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHODWLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCL
VKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIVDKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
(配列番号 50)

ヒト IgG4 空着標識
RTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSTITLTKSKADYERK
KYYACEVTHQGLSPVTKSFRGEC (配列番号 51)

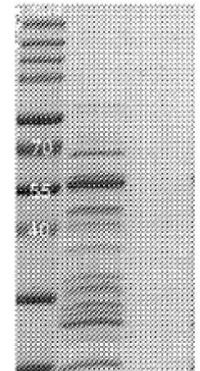
ヒト IgG4 空着標識
GQRKAAPSVEIFPPSDEELQANKATLVCLISDYPFGAVTVAWKADSSSPVKAGVETITTPSKQSNNKYAASSYLSLTPQWKSH
RYSYCQVTHGEGSTVEIKTVAIPTCS (配列番号 52)

【 図 1 1 A 】

【 図 1 1 A 】

CD38TM3-SLTA

MW マーカー
IMAC Pro-L



30

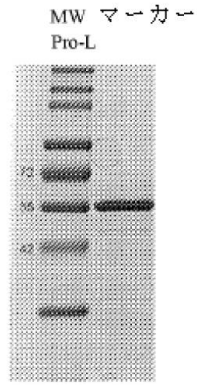
40

50

【 図 1 1 B 】

【 図 1 1 B 】

CD38TM4-SLTA



【 図 1 1 C 】

【 図 1 1 C 】

CD38TM3 VL
 QIVVYDQEPSLIVSRGETVTLTICASSTGAVTSGFYFNWFOOKPGQAPRALIYA¹TNNKYSWTPARFSGSLGDKAALTL²SRVQP
 EDEADYYCLVYYDGAWVFGGTKLTVLG (配列番号 5)

CD38TR1 VL
 DIGMITQSPSSLASVGD¹RVITTCASEDIYNRLTWYQOKPGKAPKLLISGATISLETGVPSRFSGSGTDFIT²TISSLQPEDIAT
 YYCQYWSNPYTFGGTKVEIK (配列番号 27)

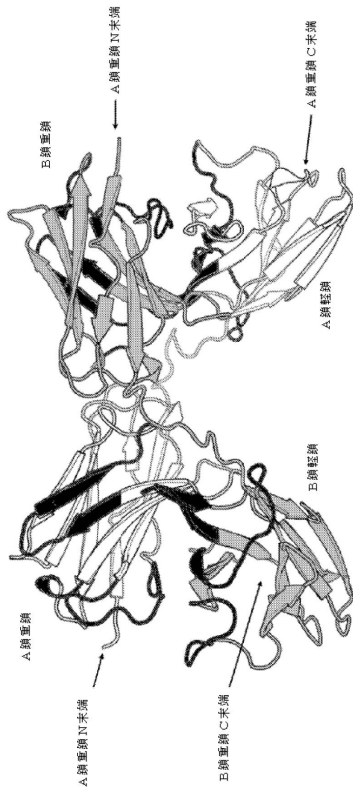
CD38TM4 VL
 DIGMITQSPSSLASVGD¹RVITTCASEDIYNRLTWYQOKPGQAPRALIYA¹TNNKYSWTPARFSGSLGDKAALTL²SRVQ
 PEDEADYYCLVYYDGAWVFGGTKLTVLG (配列番号 25)

10

20

【 図 1 2 】

【 図 1 2 】



30

40

50

【配列表】

2022518282000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2020/014845

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61P35/02 A61P35/04 C07K16/28 ADD. A61K39/00				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61P A61K C07K				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
X	WO 2012/092612 A1 (TAKEDA PHARMACEUTICAL [JP]; ELIAS KATHLEEN ANN [US] ET AL.) 5 July 2012 (2012-07-05) See 150, examples, claims -----	1-27		
X	EUROPEAN MEDICINES AGENCY: "Darzalex, ANNEX I SUMMARY OF PRODUCT CHARACTERISTICS", EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2016, pages 1-46, XP55693087, the whole document -----	1-27		
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.				
* Special categories of cited documents : <table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="vertical-align: top;"> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search 8 May 2020		Date of mailing of the international search report 25/05/2020		
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Nauche, Stéphane		

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/014845

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012092612 A1	05-07-2012	AR 084747 A1	05-06-2013
		AU 2011351921 A1	11-07-2013
		AU 2017204571 A1	27-07-2017
		AU 2019264573 A1	05-12-2019
		BR 112013017009 A2	25-07-2017
		CA 2822061 A1	05-07-2012
		CN 103282383 A	04-09-2013
		CN 107365385 A	21-11-2017
		CO 6761368 A2	30-09-2013
		CR 20130313 A	09-08-2013
		DK 2658870 T3	06-08-2018
		DK 2658871 T3	13-08-2018
		EA 201390993 A1	30-12-2013
		EA 201791186 A1	31-10-2017
		EC SP13012794 A	31-10-2013
		EP 2658870 A1	06-11-2013
		EP 2658871 A1	06-11-2013
		EP 3284754 A1	21-02-2018
		EP 3284755 A1	21-02-2018
		ES 2674175 T3	27-06-2018
		ES 2690095 T3	19-11-2018
		GE P20166493 B	27-06-2016
		HR P20181176 T1	21-09-2018
		HR P20181245 T1	05-10-2018
		HU E038535 T2	29-10-2018
		HU E038727 T2	28-11-2018
		IL 226973 A	31-08-2016
		JP 5843884 B2	13-01-2016
		JP 6148984 B2	14-06-2017
		JP 6425635 B2	21-11-2018
		JP 6425644 B2	21-11-2018
		JP 6563446 B2	21-08-2019
		JP 6621447 B2	18-12-2019
		JP 2014509187 A	17-04-2014
		JP 2014509837 A	24-04-2014
		JP 2016034954 A	17-03-2016
		JP 2016121139 A	07-07-2016
		JP 2018019689 A	08-02-2018
		JP 2018029581 A	01-03-2018
		JP 2019205454 A	05-12-2019
		JP 2020022464 A	13-02-2020
		KR 20140032963 A	17-03-2014
		KR 20190015764 A	14-02-2019
		KR 20200009142 A	29-01-2020
		LT 2658870 T	10-09-2018
		LT 2658871 T	10-09-2018
		MA 34763 B1	03-12-2013
		MX 350903 B	25-09-2017
		MY 160499 A	15-03-2017
		NZ 612272 A	24-04-2015
		NZ 705848 A	29-07-2016
		PE 20140247 A1	12-03-2014
		PL 2658870 T3	30-11-2018
		PL 2658871 T3	30-11-2018
		PT 2658870 T	03-07-2018
		PT 2658871 T	07-08-2018
		SG 191211 A1	31-07-2013
		SI 2658870 T1	30-10-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2020/014845

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		SI 2658871 T1	30-11-2018
		TR 201808709 T4	23-07-2018
		TW 201247705 A	01-12-2012
		US 2012201827 A1	09-08-2012
		US 2013171154 A1	04-07-2013
		US 2014155584 A1	05-06-2014
		US 2015203587 A1	23-07-2015
		US 2015291702 A1	15-10-2015
		US 2018016349 A1	18-01-2018
		US 2018066069 A1	08-03-2018
		US 2020031951 A1	30-01-2020
		US 2020040105 A1	06-02-2020
		UY 33850 A	31-07-2012
		WO 2012092612 A1	05-07-2012
		WO 2012092616 A1	05-07-2012
		ZA 201304696 B	25-09-2014

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	V
	A 6 1 P 35/00	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,K
G,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,N
I,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,
TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

- (72)発明者 イライアス, キャスリーン アン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, イースト グラント
アベニュー 2 8 5 , タケダ サンフランシスコ, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 ランデス, グレゴリー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, イースト グラント
アベニュー 2 8 5 , タケダ サンフランシスコ, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 シン, シュウエタ
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, イースト グラント
アベニュー 2 8 5 , タケダ サンフランシスコ, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 コーバー, ウーター
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, イースト グラント
アベニュー 2 8 5 , タケダ サンフランシスコ, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 ドレイク, アンドリュー ウォリング
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, イースト グラント
アベニュー 2 8 5 , タケダ サンフランシスコ, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 ハーク - フレンドショー, メアリー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, イースト グラント
アベニュー 2 8 5 , タケダ サンフランシスコ, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 バスカー, ヴィナイ
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, イースト グラント
アベニュー 2 8 5 , タケダ サンフランシスコ, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 ウィレルト, エリン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, イースト グラント
アベニュー 2 8 5 , タケダ サンフランシスコ, インコーポレイテッド 気付

F ターム (参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 DA01
4C085 AA14 AA15 AA34 BB36 CC23 EE01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74