

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成29年6月15日(2017.6.15)

【公表番号】特表2016-520586(P2016-520586A)

【公表日】平成28年7月14日(2016.7.14)

【年通号数】公開・登録公報2016-042

【出願番号】特願2016-513093(P2016-513093)

【国際特許分類】

C 0 7 K	16/46	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 K	47/42	(2017.01)
A 6 1 K	47/18	(2006.01)
A 6 1 K	47/26	(2006.01)
A 6 1 K	47/44	(2017.01)
A 6 1 K	9/08	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	15/08	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 K	33/24	(2006.01)
A 6 1 K	31/138	(2006.01)
A 6 1 K	31/517	(2006.01)
A 6 1 K	31/4196	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	16/46	Z N A
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 P	21/08	
C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	47/18	
A 6 1 K	47/26	
A 6 1 K	47/44	
A 6 1 K	9/08	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	15/08	
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	33/24	
A 6 1 K	31/138	
A 6 1 K	31/517	
A 6 1 K	31/4196	
A 6 1 P	43/00	1 0 5

【手続補正書】

【提出日】平成29年4月28日(2017.4.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

HER2(ヒト上皮増殖因子受容体2)の細胞外ドメイン4(ECD4)と一価でかつ特異的に結合する第1の抗原結合性ポリペプチド構築物；

HER3(ヒト上皮増殖因子受容体3)の細胞外ドメイン(ECD)と一価でかつ特異的に結合する第2の抗原結合性ポリペプチド構築物；

第1のCH3ドメインを含む第1のFcポリペプチドおよび第2のCH3ドメインを含む第2のFcポリペプチドを含み、第1のFcポリペプチドが第1の抗原結合性ポリペプチド構築物のC末端とリンカーを伴ってまたは伴わずに連結されており、第2のFcポリペプチドが第2の抗原結合性ポリペプチド構築物のC末端とリンカーを伴ってまたは伴わずに連結されている、Fcを含む、単離された二重特異性抗原結合性構築物であって、

第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型でありかつ第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型であるか、または第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型でありかつ第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型であり、かつ

HER2およびHER3を発現する細胞において、2つの第1の抗原結合性ポリペプチド構築物または2つの第2の抗原結合性ポリペプチド構築物を含む参照二価单一特異性抗体と比較して、より大きな最大結合(B_{max})を呈する、単離された二重特異性抗原結合性構築物。

【請求項2】

i . 第1の抗原結合性ポリペプチド構築物が、SEQ ID NO:55に記載されるv4248のVH1を含む第1のVHおよびSEQ ID NO:56に記載されるv4248のVL1を含む第1のVLを含むFab型であり；

ii . 第2の抗原結合性ポリペプチド構築物が、SEQ ID NO:57に記載されるv4248のVH2を含む第2のVHおよびSEQ ID NO:61に記載されるv4248のVL2を含む第2のVLを含むscFv型とする、請求項1記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

【請求項3】

a) 第1の抗原結合性ポリペプチド構築物が、以下：

i . トラスツズマブの3つのVH CDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

ii . トラスツズマブの3つのVH CDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

iii . トラスツズマブの3つのVL CDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

iv . トラスツズマブの3つのVL CDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

v . トラスツズマブの6つのCDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む6つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

vi . トラスツズマブの6つのCDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む6つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

vii . トラスツズマブのVH配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む第1のポリペプチドおよびトラスツズマブのVL配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む第2のポリペプチドを含むポリペプチド構築物；

viii . トラスツズマブのVH配列に対して100%同一であるアミノ酸配列を含む第1のポリペプチドおよびトラスツズマブのVL配列に対して100%同一であるアミノ酸配列を含む第2のポリペプチドを含むポリペプチド構築物；ならびに

ix . HER2の4D5エピトープと結合するポリペプチド；

x . HER2 ECD4に対するトラスツズマブの結合を50%またはそれを上回って遮断するポリ

ペプチド構築物

から選択され；かつ／または

b) 第2の抗原結合性ポリペプチド構築物が、以下：

i . H3の3つのVH CDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

ii . H3の3つのVH CDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

iii . H3の3つのVL CDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

iv . H3の3つのVL CDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

v . H3の6つのCDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む6つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

vi . H3の6つのCDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む6つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

vii . H3のVH配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む第1のポリペプチドおよびH3のVL配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む第2のポリペプチドを含むポリペプチド構築物；

viii . H3のVH配列に対して少なくとも100%同一であるアミノ酸配列を含む第1のポリペプチドおよびH3のVL配列に対して少なくとも100%同一であるアミノ酸配列を含む第2のポリペプチドを含むポリペプチド構築物；

ix . HER3のECDに対する抗HER3 scFv H3の結合を50%またはそれを上回って遮断するポリペプチド構築物；ならびに

x . HER3のECDに対する結合をめぐってヘレグリンと競合するポリペプチド構築物

から選択される、請求項1記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

【請求項4】

a) 第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型をとて第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型をとる；

b) 第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型をとて第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型をとる；

c) 第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型をとて第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型をとり、かつ第2の抗原結合性ポリペプチド構築物が 定常軽鎖（CL）アミノ酸配列を含む；または

d) 第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型をとて第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型をとり、かつ第2の抗原結合性ポリペプチド構築物が CLアミノ酸配列を含み；

任意で、e)scFv型をとる抗原結合性ポリペプチド構築物が、VH配列とVL配列との間へのジスルフィド結合の追加によって、またはscFvの表面疎水性を低下させることによって安定化されている、請求項1記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

【請求項5】

Fcが、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgAおよびIgEを含む任意のクラス、またはIgG1、IgG2、IgG3もしくはIgG4を含むIgGサブクラスのいずれか、またはそれらの組み合わせであるFcに由来し、

好ましくは、少なくとも1つのCH3ドメインが、野生型ホモ二量体Fcと同等の安定性を有するヘテロ二量体Fcの形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変を含み、

任意で、ヘテロ二量体Fcの二量体化したCH3ドメインが、示差走査熱量測定（DSC）による測定で、約68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、77.5、78、79、80、81、82、83、84もしくは85 またはそれよりも高い融解温度（Tm）を有し、

二量体Fcが、産生された場合に約75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98もしくは99%を上回る純度を有するヘ

テロ二量体形態である；またはFcが、発現された場合もしくは単細胞を介して発現された場合に約75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98もしくは99%を上回る純度を有するヘテロ二量体形態である、請求項1～4のいずれか一項記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

【請求項6】

- i . 500nMもしくはそれ未満の解離定数 (KD) でHER2と結合する；
- ii . 500nMもしくはそれ未満のKDでHER3と結合する；
- iii . HER3をより低活性のコンフォメーションにする；
- iv . 活性HER2-HER3ヘテロ二量体シグナル伝達を50～100%阻害する；
- v . EGFR-HER3ヘテロ二量体シグナル伝達を少なくとも50%阻害する；
- vi . HER3の、ヘレグリンにより刺激されるシグナル伝達を最大で100%遮断する；
- vii . 増殖因子の存在下もしくは非存在下における癌細胞の増殖を阻害する；
- viii . ヘレグリンの存在下における癌細胞の増殖を阻害する；
- ix . HER2および／もしくはHER3を発現する癌細胞による内部移行を受ける；
- x . HER2およびHER3を共発現する癌細胞において、参照二価単一特異性抗体と比較して内部移行の増大を示す；
- xi . 参照抗体と比較して、HER2および／もしくはHER3を発現する癌細胞に対するADCCの増大を媒介する；
- xii . HER2および／もしくはHER3を発現する乳癌細胞、卵巣癌細胞および胃癌細胞に対するADCCの増大を媒介する；
- xiii . HER2高発現、中発現もしくは低発現細胞、トリプルネガティブ乳癌細胞、エストロゲン受容体陽性乳癌細胞、およびトラスツズマブ抵抗性乳癌細胞から選択される、HER2および／もしくはHER3を発現する乳癌細胞に対するADCCの増大を媒介する；
- xiv . 癌を引き起こすことが知られている突然変異を含む、HER2および／もしくはHER3を発現する癌細胞に対するADCCの増大を媒介する；ならびに／または
- xv . Fc RIIiaF、Fc RIIiaV、Fc RIIaH、Fc RIIaR、Fc RIibY、Fc RIA、およびC1qのうち1つもしくは複数と結合する、請求項1～5のいずれか一項記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

【請求項7】

アフコシリ化されている、または
検出可能な標識、任意で、放射性化合物、蛍光性化合物、酵素、基質、エピトープタグもしくは毒素とコンジュゲートされている、あるいは
薬物、任意で、毒素、化学療法剤、免疫調節薬、もしくは放射性同位体とコンジュゲートされており、好ましくは、該薬物が、メイタンシン、オーリスタチン、カリケアマイシン、もしくはそれらの誘導体から選択される、請求項1～6記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

【請求項8】

請求項1～7のいずれか一項記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物と、薬学的担体とを含む、薬学的組成物であって、

好ましくは、該担体が、緩衝剤、抗酸化剤、低分子量分子、薬物、タンパク質、アミノ酸、糖質、脂質、キレート剤、安定化剤、または賦形剤を含む、薬学的組成物。

【請求項9】

HER2およびHER3を発現する癌細胞の増殖を阻害するインビトロの方法、または癌細胞における抗体依存性細胞性細胞傷害作用 (ADCC) を誘導するインビトロの方法であって、癌細胞を、請求項1～7のいずれか一項記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物の有効量と接触させる段階を含む、方法であり、

任意で、癌細胞が乳癌細胞であり、

好ましくは、

a) 乳癌細胞が、HER2を3+で発現する乳癌細胞であるか、あるいは

b) 免疫組織化学による測定で乳癌細胞がHER2および／もしくはHER3を高レベルで発現

するか、またはHER2および／もしくはHER3の遺伝子が該癌細胞において増幅されている、方法。

【請求項 10】

以下a.～e.のための医薬品の製造における、請求項1～7のいずれか一項記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物または請求項8記載の薬学的組成物の、使用：

a. HER2およびHER3を発現するある腫瘍細胞の増殖(growth)および／または増殖(proliferation)を阻害する；

b. 腫瘍細胞における抗体依存性細胞性細胞傷害作用(ADCC)を誘導する；

c. 哺乳動物における、HER2および／またはHER3の過剰発現によって特徴づけられる腫瘍を治療する；

d. 哺乳動物における、低レベルのHER2および／またはHER3を発現する腫瘍を治療する；
または

e. 哺乳動物における、HER2およびHER3を共発現する腫瘍を治療する。

【請求項 11】

腫瘍が、乳癌、結腸直腸癌、肝癌、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、胃癌、または肺癌腫瘍であり、

好ましくは、a)乳癌が、基底細胞様乳癌、HER2リッチ(HER2-enriched)乳癌、ルミナルA乳癌、ルミナルB乳癌、または正常様トリプルネガティブ乳癌から選択されるトリプルネガティブ乳癌であるか；

b)腫瘍が、エストロゲン受容体陽性(ER+)BRCA関連乳癌、結腸直腸腺癌、肝臓の肝細胞癌、肺臓腺癌、前立腺腺癌、胃腺癌、または肺腺癌腫瘍であるか；

c)腫瘍が、トラスツズマブ、ペルツズマブ、トラスツズマブエムタンシン(T-DM1)、およびそれらの組み合わせから選択される抗HER2抗体治療に対して不応性または抵抗性であるか；

d)腫瘍が、抗HER3抗体、ラパチニブ、エルロチニブ、ゲフィニチブ、またはerbBファミリーシグナル伝達の他の小分子阻害薬に対して不応性または抵抗性であるか；

e)腫瘍が化学療法に対して不応性であるか；または

f)腫瘍がHER2を1+、2+または3+のレベルで発現し、

任意で、二重特異性抗原結合性構築物または薬学的組成物が他の治療剤と組み合わせて投与され、好ましくは、該他の治療剤が、ペルツズマブ、セツキシマブ、または有効量の抗エストロゲン薬(例えば、タモキシフェン、レトロゾール)、キナーゼ阻害薬(ラパチニブ、エルロチニブ)、mTOR阻害薬、もしくは化学療法剤(例えば、カペシタビンおよび／もしくはシスプラチン)から選択される、請求項10記載の使用。

【請求項 12】

請求項1～7のいずれか一項記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物を生産する方法であって、以下の段階を含む、方法：

二重特異性抗原結合性構築物を発現するのに適した条件下で宿主細胞を培養する段階であって、宿主細胞が請求項1～7のいずれか一項記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物をコードするポリヌクレオチドを含む、段階、および

二重特異性抗体構築物を精製する段階。

【請求項 13】

請求項1～7のいずれか一項記載の二重特異性抗原結合性構築物をコードする、1つの単離されたポリヌクレオチドまたは単離されたポリヌクレオチドのセット。

【請求項 14】

請求項13記載の1つのポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットのうち、1つまたは複数を含む、1つのベクターまたはベクターのセット。

【請求項 15】

請求項13記載の前記ポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセット、または請求項14記載の前記ベクターもしくはベクターのセットを含み、

好ましくは、ハイブリドーマ、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、またはHEK29

3細胞であり、

任意で、前記のポリヌクレオチド、ポリヌクレオチドのセット、ベクター、またはベクターのセットによって安定的にトランスフェクトされている、単離された細胞。

【請求項 1 6】

細胞におけるHER2およびHER3の二量体化を阻害する方法であって、以下の段階を含む、インビトロの方法：

細胞を請求項1～7のいずれか一項記載の単離された二重特異性抗原結合性構築物の有効量と接触させる段階であって、それによって、細胞におけるHER2およびHER3の二量体化を阻害する、段階。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

本明細書に記載の二重特異性抗原結合性構築物を有する薬学的組成物、および本明細書に記載の二重特異性抗原結合性構築物を用いる、例えば、癌、例えば乳癌の治療の方法も同じく記載される。

[本発明1001]

HER2（ヒト上皮増殖因子受容体2）の細胞外ドメイン4（ECD4）と一緒にかつ特異的に結合する第1の抗原結合性ポリペプチド構築物；

HER3（ヒト上皮増殖因子受容体3）の細胞外ドメイン（ECD）と一緒にかつ特異的に結合する第2の抗原結合性ポリペプチド構築物；

第1のCH3ドメインを含む第1のFcポリペプチドおよび第2のCH3ドメインを含む第2のFcポリペプチドを含み、第1のFcポリペプチドが第1の抗原結合性ポリペプチド構築物のC末端とリンカーを伴ってまたは伴わずに連結されており、第2のFcポリペプチドが第2の抗原結合性ポリペプチド構築物のC末端とリンカーを伴ってまたは伴わずに連結されている、Fcを含む、単離された二重特異性抗原結合性構築物であって、

第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型でありかつ第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型であるか、または第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型でありかつ第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型であり、かつ

HER2およびHER3を発現する細胞において、2つの第1の抗原結合性ポリペプチド構築物または2つの第2の抗原結合性ポリペプチド構築物を含む参照二価単一特異性抗体と比較して、より大きな最大結合（B_{max}）を呈する、単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1002]

v4248からなる、本発明1001の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1003]

i . 第1の抗原結合性ポリペプチド構築物が、v4248のVH1を含む第1のVHおよびv4248のVL1を含む第1のVLを含むFab型であり；

ii . 第2の抗原結合性ポリペプチド構築物が、v4248のVH2を含む第2のVHおよびv4248のVL2を含む第2のVLを含むscFv型をとる、本発明1001の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1004]

第1の抗原結合性ポリペプチド構築物が、以下：

i . ト拉斯ツズマブの3つのVH CDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

ii . ト拉斯ツズマブの3つのVH CDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

iii . ト拉斯ツズマブの3つのVL CDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

iv. トラスツズマブの3つのVL CDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

v. トラスツズマブの6つのCDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む6つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

vi. トラスツズマブの6つのCDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む6つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

vii. トラスツズマブのVH配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む第1のポリペプチドおよびトラスツズマブのVL配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む第2のポリペプチドを含むポリペプチド構築物；

viii. トラスツズマブのVH配列に対して100%同一であるアミノ酸配列を含む第1のポリペプチドおよびトラスツズマブのVL配列に対して100%同一であるアミノ酸配列を含む第2のポリペプチドを含むポリペプチド構築物；ならびに

ix. HER2の4D5エピトープと結合するポリペプチド；

x. HER2 ECD4に対するトラスツズマブの結合を50%またはそれを上回って遮断するポリペプチド構築物

から選択される、本発明1001の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1005]

第2の抗原結合性ポリペプチド構築物が、以下：

i. H3の3つのVH CDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

ii. H3の3つのVH CDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

iii. H3の3つのVL CDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

iv. H3の3つのVL CDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む3つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

v. H3の6つのCDR配列に対して少なくとも95%同一なアミノ酸配列を含む6つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

vi. H3の6つのCDR配列に対して100%同一なアミノ酸配列を含む6つのCDR配列を含むポリペプチド構築物；

vii. H3のVH配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む第1のポリペプチドおよびH3のVL配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む第2のポリペプチドを含むポリペプチド構築物；

viii. H3のVH配列に対して少なくとも100%同一であるアミノ酸配列を含む第1のポリペプチドおよびH3のVL配列に対して少なくとも100%同一であるアミノ酸配列を含む第2のポリペプチドを含むポリペプチド構築物；

ix. HER3のECDに対する抗HER3 scFv H3の結合を50%またはそれを上回って遮断するポリペプチド構築物；ならびに

x. HER3のECDに対する結合をめぐってヘレグリンと競合するポリペプチド構築物

から選択される、本発明1001または本発明1004の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1006]

第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型をとって第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型をとる、本発明1001～1005のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1007]

第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型をとって第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型をとる、本発明1001、1004または1005の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1008]

第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型をとて第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型をとり、かつ第2の抗原結合性ポリペプチド構築物が定常軽鎖(CL)アミノ酸配列を含む、本発明1001、1004または1005の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1009]

第1の抗原結合性ポリペプチド構築物がscFv型をとて第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がFab型をとり、かつ第2の抗原結合性ポリペプチド構築物がCLアミノ酸配列を含む、本発明1001、1004または1005の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1010]

scFv型をとる抗原結合性ポリペプチド構築物が、VH配列とVL配列との間へのジスルフィド結合の追加によって、またはscFvの表面疎水性を低下させることによって安定化されている、本発明1001～1009のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1011]

Fcが、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgAおよびIgEを含む任意のクラス、またはIgG1、IgG2、IgG3もしくはIgG4を含むIgGサブクラスのいずれか、またはそれらの組み合わせであるFcに由来する、本発明1001～1010のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1012]

少なくとも1つのCH3ドメインが、野生型ホモ二量体Fcと同等の安定性を有するヘテロ二量体Fcの形成を促進する少なくとも1つのアミノ酸改変を含む、本発明1001～1011のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1013]

ヘテロ二量体Fcの二量体化したCH3ドメインが、示差走査熱量測定(DSC)による測定で、約68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、77.5、78、79、80、81、82、83、84もしくは85またはそれよりも高い融解温度(Tm)を有する、本発明1012の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1014]

二量体Fcが、產生された場合に約75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98もしくは99%を上回る純度を有するヘテロ二量体形態である；またはFcが、発現された場合もしくは単細胞を介して発現された場合に約75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98もしくは99%を上回る純度を有するヘテロ二量体形態である、本発明1012または1013のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1015]

- i . 500nMもしくはそれ未満の解離定数(KD)でHER2と結合する；
- ii . 500nMもしくはそれ未満のKDでHER3と結合する；
- iii . HER3をより低活性のコンフォメーションにする；
- iv . 活性HER2-HER3ヘテロ二量体シグナル伝達を50～100%阻害する；
- v . EGFR-HER3ヘテロ二量体シグナル伝達を少なくとも50%阻害する；
- vi . HER3の、ヘレグリンにより刺激されるシグナル伝達を最大で100%遮断する；
- vii . 増殖因子の存在下もしくは非存在下における癌細胞の増殖を阻害する；
- viii . ヘレグリンの存在下における癌細胞の増殖を阻害する；
- ix . HER2および/もしくはHER3を発現する癌細胞による内部移行を受ける；
- x . HER2およびHER3を共発現する癌細胞において、参照二価単一特異性抗体と比較して内部移行の増大を示す；
- xi . 参照抗体と比較して、HER2および/もしくはHER3を発現する癌細胞に対するADCCの増大を媒介する；
- xii . HER2および/もしくはHER3を発現する乳癌細胞、卵巣癌細胞および胃癌細胞に対するADCCの増大を媒介する；
- xiii . HER2高発現、中発現もしくは低発現細胞、トリプルネガティブ乳癌細胞、エストロゲン受容体陽性乳癌細胞、およびトラスツズマブ抵抗性乳癌細胞から選択される、HER2および/もしくはHER3を発現する乳癌細胞に対するADCCの増大を媒介する；

xiv. 癌を引き起こすことが知られている突然変異を含む、HER2および／もしくはHER3を発現する癌細胞に対するADCCの増大を媒介する；ならびに／または

xv. Fc RIIiaF、Fc RIIiaV、Fc RIIaH、Fc RIIaR、Fc RIibY、Fc RIA、およびC1qのうち1つもしくは複数と結合する、本発明1001～1014のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1016]

アフコシル化されている、本発明1001～1015のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1017]

検出可能な標識または薬物とコンジュゲートされている、本発明1001～1016のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1018]

検出可能な標識が放射性化合物、蛍光性化合物、酵素、基質、エピトープタグまたは毒素である、本発明1017の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1019]

薬物が毒素、化学療法剤、免疫調節薬、または放射性同位体である、本発明1017の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1020]

薬物が、メイタンシン、オーリスタチン、カリケアマイシン、またはそれらの誘導体から選択される、本発明1017の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1021]

薬物が、DM1およびDM4から選択されるメイタンシンである、本発明1017の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1022]

毒素が、SMCCリンカー（DM1）またはSPDBリンカー（DM4）によって、単離された二重特異性抗原結合性構築物とコンジュゲートされている、本発明1021の単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1023]

薬物-抗体比（DAR）が1.0～6.0または3.0～5.0または3.5～4.2である、本発明1021～1022のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物。

[本発明1024]

本発明1001～1023のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物と、薬学的担体とを含む、薬学的組成物。

[本発明1025]

担体が、緩衝剤、抗酸化剤、低分子量分子、薬物、タンパク質、アミノ酸、糖質、脂質、キレート剤、安定化剤、または賦形剤を含む、本発明1025の薬学的組成物。

[本発明1026]

HER2およびHER3を発現する癌細胞の増殖を阻害する方法であって、癌細胞を、本発明1001～1023のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物の有効量と、癌細胞の増殖を阻害するのに十分な条件下で接触させる段階を含む、方法。

[本発明1027]

癌細胞が乳癌細胞である、本発明1026の方法。

[本発明1028]

乳癌細胞が、HER2を3+で発現する乳癌細胞である、本発明1027の方法。

[本発明1029]

免疫組織化学による測定で乳癌細胞がHER2および／もしくはHER3を高レベルで発現するか、またはHER2および／もしくはHER3の遺伝子が該癌細胞において増幅されている、本発明1027の方法。

[本発明1030]

癌細胞における抗体依存性細胞性細胞傷害作用（ADCC）を誘導する方法であって、癌細

胞を、本発明1001～1023のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物の有効量と、癌細胞におけるADCCを誘導するのに十分な条件下で接触させる段階を含む、方法。

[本発明1031]

哺乳動物における、HER2およびHER3を発現する1つまたは複数の腫瘍細胞の増殖(growth)および/または増殖(proliferation)を阻害する方法であって、以下の段階を含む、方法：

本発明1001～1023のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物または本発明1024もしくは1025の薬学的組成物の有効量を哺乳動物に投与する段階であって、それによつて、哺乳動物における、HER2およびHER3を発現する1つまたは複数の腫瘍細胞の増殖(growth)および/または増殖(proliferation)を阻害する、段階。

[本発明1032]

哺乳動物における、HER2および/またはHER3の過剰発現によって特徴づけられる腫瘍を治療する方法であって、以下の段階を含む、方法：

本発明1001～1023のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物または本発明1024もしくは1025の薬学的組成物の有効量を哺乳動物に投与する段階であって、それによつて、哺乳動物における、HER2および/またはHER3の過剰発現によって特徴づけられる腫瘍を治療する、段階。

[本発明1033]

哺乳動物における、低レベルのHER2および/またはHER3を発現する腫瘍を治療する方法であって、以下の段階を含む、方法：

本発明1001～1023のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物または本発明1024もしくは1025の薬学的組成物の有効量を哺乳動物に投与する段階であって、それによつて、哺乳動物における、低レベルのHER2および/またはHER3を発現する腫瘍を治療する、段階。

[本発明1034]

哺乳動物における、HER2およびHER3を共発現する腫瘍を治療する方法であって、以下の段階を含む、方法：

本発明1001～1023のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物または本発明1024もしくは1025の薬学的組成物の有効量を哺乳動物に投与する段階であって、それによつて、哺乳動物における、HER2およびHER3を共発現する腫瘍を治療する、段階。

[本発明1035]

腫瘍が、乳癌、結腸直腸癌、肝癌、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、胃癌、または肺癌腫瘍である、本発明1031～1034のいずれかの方法。

[本発明1036]

腫瘍が乳癌腫瘍である、本発明1031～1034のいずれかの方法。

[本発明1037]

乳癌が、基底細胞様乳癌、HER2リッチ(HER2-enriched)乳癌、ルミナルA乳癌、ルミナルB乳癌、または正常様トリプルネガティブ乳癌から選択されるトリプルネガティブ乳癌である、本発明1036の方法。

[本発明1038]

腫瘍が、エストロゲン受容体陽性(ER+)BRCA関連乳癌、結腸直腸腺癌、肝臓の肝細胞癌、肺臓腺癌、前立腺腺癌、胃腺癌、または肺腺癌腫瘍である、本発明1031～1034のいずれかの方法。

[本発明1039]

腫瘍が、トラスツズマブ、ペルツズマブ、トラスツズマブエムタンシン(T-DM1)、およびそれらの組み合わせから選択される抗HER2抗体治療に対して不応性または抵抗性である、本発明1031～1038のいずれかの方法。

[本発明1040]

腫瘍が、抗HER3抗体、ラバチニブ、エルロチニブ、ゲフィニチブ、またはerbBファミリーシグナル伝達の他の小分子阻害薬に対して不応性または抵抗性である、本発明1031～10

38のいずれかの方法。

[本発明1041]

腫瘍が化学療法に対して不応性である、本発明1031～1040のいずれかの方法。

[本発明1042]

腫瘍がHER2を1+、2+または3+のレベルで発現する、本発明1031～1041のいずれかの方法。

[本発明1043]

哺乳動物がヒトまたは非ヒト霊長動物である、本発明1031～1042のいずれかの方法。

[本発明1044]

腫瘍に対して細胞分裂抑制性であるかまたは腫瘍に対して細胞傷害性である、本発明1031～1043のいずれかの方法。

[本発明1045]

哺乳動物の全生存期間を増加させる、本発明1031～1044のいずれかの方法。

[本発明1046]

投与する段階が、静脈内注射、腹腔内注射、または皮下注射による、本発明1031～1045のいずれかの方法。

[本発明1047]

投与する段階が、初回負荷量と、その後の間隔を置いたより少量の維持量を含む、本発明1031～1046のいずれかの方法。

[本発明1048]

負荷量が最大で最大耐量（MTD）であり、維持量が最大で10mg / kgであって間隔が7日間程度の短さである（DM1の場合のみ）、本発明1047の方法。

[本発明1049]

二重特異性抗原結合性構築物または薬学的組成物が他の治療剤と組み合わせて投与される、本発明1031～1048のいずれかの方法。

[本発明1050]

他の治療剤が、ペルツズマブ、セツキシマブ、または有効量の抗エストロゲン薬（例えば、タモキシフェン、レトロゾール）、キナーゼ阻害薬（ラパチニブ、エルロチニブ）、mTOR阻害薬、もしくは化学療法剤（例えば、カペシタビンおよび／もしくはシスプラチン）から選択される、本発明1049の方法。

[本発明1051]

本発明1001～1015のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物を生産する方法であって、以下の段階を含む、方法：

二重特異性抗原結合性構築物を発現するのに適した条件下で宿主細胞を培養する段階であって、宿主細胞が本発明1001～1015のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物をコードするポリヌクレオチドを含む、段階、および

二重特異性抗体構築物を精製する段階。

[本発明1052]

本発明1001～1015のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物の少なくとも1つのポリペプチドをコードする少なくとも1つの核酸配列を含む、1つの単離されたポリヌクレオチドまたは単離されたポリヌクレオチドのセット。

[本発明1053]

1つのポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットがcDNAである、本発明1052の単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1054]

本発明1001～1015のいずれかの二重特異性抗原結合性構築物をコードする、1つの単離されたポリヌクレオチドまたは単離されたポリヌクレオチドのセット。

[本発明1055]

本発明1052～1054のいずれかの1つのポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットのうち、1つまたは複数を含む、1つのベクターまたはベクターのセット。

[本発明1056]

プラスミド、ウイルスベクター、非エピソーム性哺乳動物ベクター、発現ベクターおよび組換え発現ベクターからなる群より選択される、本発明1052～1054のいずれかの1つのポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットのうち、1つまたは複数を含む、1つのベクターまたはベクターのセット。

[本発明1057]

本発明1052～1054のいずれかの1つのポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセット、または本発明1055もしくは1056の1つのベクターもしくはベクターのセットを含む、単離された細胞。

[本発明1058]

ハイブリドーマ、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、またはHEK293細胞である、本発明1057の単離された細胞。

[本発明1059]

1つのポリヌクレオチド、ポリヌクレオチドのセット、1つのベクター、またはベクターのセットによって安定的にトランスフェクトされた、本発明1057または1058の単離された細胞。

[本発明1060]

細胞におけるHER2およびHER3の二量体化を阻害する方法であって、以下の段階を含む、方法：

細胞を本発明1001～1023のいずれかの単離された二重特異性抗原結合性構築物の有効量と接触させる段階であって、それによって、細胞におけるHER2およびHER3の二量体化を阻害する、段階。