

【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28年6月23日(2016.6.23)

【公表番号】特表2015-522525(P2015-522525A)

【公表日】平成27年8月6日(2015.8.6)

【年通号数】公開・登録公報2015-050

【出願番号】特願2015-510588(P2015-510588)

【国際特許分類】

C 07 K	16/46	(2006.01)
C 12 N	5/10	(2006.01)
C 07 K	16/24	(2006.01)
C 07 K	16/28	(2006.01)
A 61 K	39/395	(2006.01)
A 61 K	45/00	(2006.01)
A 61 P	35/00	(2006.01)
A 61 P	37/02	(2006.01)
A 61 P	43/00	(2006.01)
C 07 K	16/44	(2006.01)
C 12 P	21/08	(2006.01)

【F I】

C 07 K	16/46	Z N A
C 12 N	5/00	1 0 2
C 07 K	16/24	
C 07 K	16/28	
A 61 K	39/395	T
A 61 K	39/395	N
A 61 K	45/00	
A 61 P	35/00	
A 61 P	37/02	
A 61 P	43/00	1 2 1
C 07 K	16/44	
C 12 P	21/08	

【手続補正書】

【提出日】平成28年5月2日(2016.5.2)

【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】

少なくとも1つの單ードメイン抗原結合構築物およびヘテロ二量体Fc領域を含む単離ヘテロ多量体であって、前記ヘテロ二量体Fc領域が第1の単量体Fcポリペプチドおよび第2の単量体Fcポリペプチドを含み、

第1および第2の単量体Fcポリペプチドがそれぞれ独立に、ホモ二量体Fc領域と比較して前記ヘテロ二量体Fc領域の形成を促進するアミノ酸突然変異を含み、前記アミノ酸突然変異が、

(a) T 366、T 394、F 405、およびY 407の位置の突然変異、または

(b) T 366、Y 407、およびK 409の位置の突然変異を含み；

前記単一ドメイン抗原結合構築物が第1および第2の単量体Fcポリペプチドの一方に結合しており；

前記単離ヘテロ多量体が免疫グロブリン軽鎖を欠いており；かつアミノ酸残基の番号付けが、Kabatにより記載されたEUインデックスに従っている、単離ヘテロ多量体。

**【請求項2】**

前記単一ドメイン抗原結合構築物が、重鎖抗体構築物であるか、またはSH3誘導性フィノマーもしくはフィブロネクチン誘導性結合ドメインから誘導される、請求項1に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項3】**

前記ヘテロ二量体Fc領域が、90%以上の純度および70以上的融解温度(Tm)を有する、請求項1または2に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項4】**

免疫グロブリンの第1の定常(CH1)領域も欠いている、請求項1～3のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項5】**

前記アミノ酸突然変異が、T366、T394、F405、およびY407の位置の突然変異を含み、T366の位置のアミノ酸突然変異がT366I、T366L、T366M、またはT366Vであり、T394の位置のアミノ酸突然変異がT394Wであり、F405の位置のアミノ酸突然変異がF405A、F405T、F405S、またはF405Vであり、かつY407の位置のアミノ酸突然変異がY407V、Y407A、Y407L、またはY407Iである、請求項1～4のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項6】**

第1の単量体FcポリペプチドがF405およびY407の位置のアミノ酸突然変異を含み、かつ第2の単量体FcポリペプチドがT366およびT394の位置のアミノ酸突然変異を含む、請求項5に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項7】**

第1のFcポリペプチド、第2のFcポリペプチド、または第1および第2のFcポリペプチドの両方がアミノ酸突然変異T350Xをさらに含み、Xが、バリン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、およびその誘導体または変種から選択される天然または非天然のアミノ酸である、請求項1～6のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項8】**

前記アミノ酸突然変異T350XがT350Vである、請求項7に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項9】**

第1および第2の単量体Fcポリペプチドの両方がアミノ酸突然変異T350Vを含む、請求項8に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項10】**

前記アミノ酸突然変異が、L351の位置のアミノ酸突然変異および/またはK392の位置のアミノ酸突然変異をさらに含み、L351の位置のアミノ酸突然変異がL351Y、L351I、またはL351Fであり、かつK392の位置のアミノ酸突然変異がK392L、K392M、K392V、またはK392Fである、請求項1～9のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項11】**

第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異F405AおよびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドが、アミノ酸突然変異T366LまたはT366Iのうちの1つとアミノ酸突然変異T394Wとを含む、請求項1～10のいずれか一項に

記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 1 2】**

(a) 第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 L 351Y をさらに含むか、または

(b) 第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 K 392M もしくは K 392L のうちの1つをさらに含むか、または

(c) 第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 L 351Y をさらに含み、かつ第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 K 392L もしくは K 392M のうちの1つをさらに含む、

請求項 1 1 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 1 3】**

第1または第2の単量体 Fc ポリペプチドが、S 400、Q 347、K 360、または N 390 のうちの1つまたは複数の位置のアミノ酸突然変異をさらに含み、

S 400 の位置のアミノ酸突然変異が S 400E、S 400D、S 400R、または S 400K であり；

Q 347 の位置のアミノ酸突然変異が Q 347R、Q 347E、または Q 347K であり；

K 360 の位置のアミノ酸突然変異が K 360D、K 360E、または K 360R であり；かつ

N 390 の位置のアミノ酸突然変異が N 390R、N 390E、または N 390D である、

請求項 1 1 または 1 2 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 1 4】**

第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 S 400E または Q 347R のうちの少なくとも1つを含み、かつ第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 N 390R または K 360E のうちの少なくとも1つを含む、請求項 1 3 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 1 5】**

(a) 第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 L 351Y、F 405A、および Y 407V を含み、かつ第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 366L、K 392M、および T 394W を含むか；または

(b) 第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 L 351Y、F 405A、および Y 407V を含み、かつ第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 366L、K 392L、および T 394W を含むか；または

(c) 第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 L 351Y、F 405A、および Y 407V を含み、かつ第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 366I、K 392M、および T 394W を含むか；または

(d) 第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 L 351Y、F 405A、および Y 407V を含み、かつ第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 366I、K 392L、および T 394W を含む、

請求項 1 2 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 1 6】**

(a) 第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 S 400E をさらに含むか、または

(b) 第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 N 390R をさらに含むか、または

(c) 第1の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 S 400E をさらに含み、かつ第2の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 N 390R をさらに含む、

請求項 1 5 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 1 7】**

第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異L351Y、S400E、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T366L、N390R、K392M、およびT394Wを含む、請求項16に記載の単離ヘテロ多量体。

【請求項18】

(a) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異F405AおよびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T366LおよびT394Wを含むか；または

(b) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異F405AおよびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T366L、K392MおよびT394Wを含むか；または

(c) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、K392M、およびT394Wを含むか；または

(d) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、K392M、およびT394Wを含むか；または

(e) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、K392L、およびT394Wを含むか；または

(f) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、S400R、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、K392M、およびT394Wを含むか；または

(g) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、S400E、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、N390R、K392M、およびT394Wを含むか；または

(h) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、S400E、F405V、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、N390R、K392M、およびT394Wを含むか；または

(i) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、S400E、F405T、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、N390R、K392M、およびT394Wを含むか；または

(j) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、S400E、F405S、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、N390R、K392M、およびT394Wを含むか；または

(k) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、S400E、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、T366L、N390R、K392M、およびT394Wを含むか；または

(l) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、S400E、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異T350V、L351Y、T366L、N390R、K392M、およびT394Wを含むか；または

(m) 第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異Q347R、T350V、L351Y、S400E、F405A、およびY407Vを含み、かつ第2の単量体Fcポ

リペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、K 3 6 0 E、T 3 6 6 L、N 3 9 0 R、K 3 9 2 M、および T 3 9 4 W を含むか；または

(n) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、L 3 5 1 Y、S 4 0 0 R、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、T 3 6 6 L、N 3 9 0 D、K 3 9 2 M、および T 3 9 4 W を含むか；または

(o) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、L 3 5 1 Y、S 4 0 0 R、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、T 3 6 6 L、N 3 9 0 E、K 3 9 2 M、および T 3 9 4 W を含むか；または

(p) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、L 3 5 1 Y、S 4 0 0 E、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、T 3 6 6 L、N 3 9 0 R、K 3 9 2 L、および T 3 9 4 W を含むか；または

(q) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、L 3 5 1 Y、S 4 0 0 E、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、T 3 6 6 L、N 3 9 0 R、K 3 9 2 F、および T 3 9 4 W を含むか；または

(r) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 Y 3 4 9 C、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 S 3 5 4 C、T 3 6 6 L、および T 3 9 4 W を含むか；または

(s) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 Y 3 4 9 C、D 3 9 9 C、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 S 3 5 4 C、T 3 6 6 L、K 3 9 2 C、および T 3 9 4 W を含むか；または

(t) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 Y 3 4 9 C、T 3 5 0 V、L 3 5 1 Y、S 4 0 0 E、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、S 3 5 4 C、T 3 6 6 L、N 3 9 0 R、K 3 9 2 M、および T 3 9 4 W を含むか；または

(u) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 Y 3 4 9 C、T 3 5 0 V、S 4 0 0 E、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、S 3 5 4 C、T 3 6 6 L、N 3 9 0 R、K 3 9 2 M、および T 3 9 4 W を含むか；または

(v) 第 1 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 Y 3 4 9 C、T 3 5 0 V、F 4 0 5 A、および Y 4 0 7 V を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがアミノ酸突然変異 T 3 5 0 V、S 3 5 4 C、T 3 6 6 L、K 3 9 2 M、および T 3 9 4 W を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

#### 【請求項 19】

前記アミノ酸突然変異が T 3 6 6、Y 4 0 7、および K 4 0 9 の位置の突然変異を含み、T 3 6 6 の位置のアミノ酸突然変異が T 3 6 6 A、T 3 6 6 I、T 3 6 6 L、T 3 6 6 M、T 3 6 6 S、または T 3 6 6 V であり、Y 4 0 7 の位置のアミノ酸突然変異が Y 4 0 7 A、Y 4 0 7 V、Y 4 0 7 L、または Y 4 0 7 I であり、かつ K 4 0 9 の位置のアミノ酸突然変異が K 4 0 9 F、K 4 0 9 I、K 4 0 9 M、K 4 0 9 S、または K 4 0 9 W である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

#### 【請求項 20】

第 1 の単量体 Fc ポリペプチドが Y 4 0 7 の位置のアミノ酸突然変異を含み、かつ第 2 の単量体 Fc ポリペプチドが T 3 6 6 および K 4 0 9 の位置のアミノ酸突然変異を含む、請求項 19 に記載の単離ヘテロ多量体。

#### 【請求項 21】

前記アミノ酸突然変異が、L 3 5 1 Y、L 3 5 1 I、および L 3 5 1 F から選択される L 3 5 1 の位置のアミノ酸突然変異をさらに含む、請求項 20 に記載の単離ヘテロ多量体

## 【請求項 22】

第1の単量体Fcポリペプチドがアミノ酸突然変異L351YおよびY407Aを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドが、アミノ酸突然変異K409Fとアミノ酸突然変異T366A、T366L、T366M、T366S、またはT366Vのうちの1つとを含む、請求項21に記載の単離ヘテロ多量体。

## 【請求項 23】

第1または第2の単量体Fcポリペプチドが、T411、D399、S400、F405、N390、およびK392のうちの1つまたは複数の位置のアミノ酸突然変異をさらに含み、

T411の位置のアミノ酸突然変異がT411N、T411R、T411Q、T411K、T411D、T411E、またはT411Wであり；

D399の位置のアミノ酸突然変異がD399R、D399W、D399Y、またはD399Kであり；

S400の位置のアミノ酸突然変異がS400E、S400D、S400R、またはS400Kであり；

F405の位置のアミノ酸突然変異がF405I、F405M、F405T、F405S、F405V、またはF405Wであり；

N390の位置のアミノ酸突然変異がN390R、N390K、またはN390Dであり；かつ

K392の位置のアミノ酸突然変異がK392V、K392M、K392R、K392L、K392F、またはK392Eである、

請求項19～22のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

## 【請求項 24】

(a) 第1の単量体Fcポリペプチドが、アミノ酸突然変異D399RもしくはD399Wのうちの1つを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドが、アミノ酸突然変異K392EもしくはK392Lのうちの1つとアミノ酸突然変異T411EもしくはT411Dのうちの1つとを含むか、または

(b) 第1の単量体Fcポリペプチドが、アミノ酸突然変異D399RもしくはD399Wのうちの1つとアミノ酸突然変異S400RもしくはS400Kのうちの1つとを含み、かつ第2の単量体Fcポリペプチドが、アミノ酸突然変異K392EもしくはK392Lのうちの1つとアミノ酸突然変異T411EもしくはT411Dのうちの1つとを含む、

請求項23に記載の単離ヘテロ多量体。

## 【請求項 25】

前記ヘテロ多量体が、1つの單一ドメイン抗原結合構築物を含む、請求項1～24のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

## 【請求項 26】

前記ヘテロ多量体が、第1および第2の単量体Fcポリペプチドの一方に結合している第1の單一ドメイン抗原結合構築物と、他方の単量体Fcポリペプチドに結合している第2の單一ドメイン抗原結合構築物とを含む、請求項1～24のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

## 【請求項 27】

前記單一ドメイン抗原結合構築物の両方が同一のエピトープに結合する、請求項26に記載の単離ヘテロ多量体。

## 【請求項 28】

第1および第2の単一ドメイン抗原結合構築物が異なるエピトープに結合する、請求項26に記載の単離ヘテロ多量体。

## 【請求項 29】

前記單一ドメイン抗原結合構築物が、單一ドメイン抗体(sドメインまたはVH)、ラク

ダ科動物抗体 (V<sub>h</sub>H)、または軟骨魚類抗体フラグメント (V<sub>N</sub>A<sub>R</sub>) から誘導される重鎖抗体構築物である、請求項 1 ~ 28 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 30】**

前記単一ドメイン抗原結合構築物がラクダ科動物抗体 (V<sub>h</sub>H) から誘導される、請求項 29 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 31】**

前記単一ドメイン抗原結合構築物が腫瘍関連抗原に結合する、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 32】**

前記単一ドメイン抗原結合構築物が EGFR または EGFR 1 突然変異変種 EGFR v<sub>I</sub>I に結合する、請求項 31 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 33】**

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、 IgG1、 IgG2、 IgG3、 または IgG4 に基づいている、請求項 1 ~ 32 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 34】**

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、 IgG1 に基づいている、請求項 33 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 35】**

前記ヘテロ多量体が、二重特異的抗体または多特異的抗体である、請求項 1 ~ 34 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 36】**

前記単一ドメイン抗原結合構築物が、治療抗体と結合を競合する、請求項 1 ~ 35 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 37】**

前記治療抗体が、アバゴボマブ、アダリムマブ、アレムツズマブ、アウログラブ、バビネオズマブ、バシリキシマブ、ベリムマブ、ベバシズマブ、ブリアキヌマブ、カナキヌマブ、カツマキソマブ、セルトリズマブペゴル、セツキシマブ、ダクリズマブ、デノスマブ、エファリズマブ、ガリキシマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、ゴリムマブ、イブリツモマブチウキセタン、インフリキシマブ、イピリムマブ、ルミリキシマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、ムロモナブ、ミコグラブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、オクレリズマブ、オファツムマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パニツムマブ、ペルツズマブ、ラニビズマブ、レスリズマブ、リツキシマブ、テプリズマブ、トシリズマブ/アトリズマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ、Proximium (商標)、Rencarex (商標)、ウステキヌマブ、およびザルツムマブからなる群から選択される、請求項 36 に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 38】**

前記ヘテロ多量体が治療剤と複合体化している、請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体。

**【請求項 39】**

請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体および薬学的に許容される担体を含む、組成物。

**【請求項 40】**

請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体をコードする 1 つまたは複数のポリヌクレオチドを含む、組成物。

**【請求項 41】**

請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体をコードする 1 つまたは複数のポリヌクレオチドを含む、哺乳類宿主細胞。

**【請求項 42】**

その必要がある患者において疾患または障害を治療するための、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の単離ヘテロ多量体を含む治療薬。

**【請求項 4 3】**

前記疾患または障害が癌である、請求項 4 2 に記載の治療薬。

**【請求項 4 4】**

前記疾患または障害が免疫障害である、請求項 4 2 に記載の治療薬。

**【請求項 4 5】**

少なくとも 1 つの單一ドメイン抗原結合構築物およびヘテロ二量体 Fc 領域を含む単離ヘテロ多量体であって、前記ヘテロ二量体 Fc 領域が第 1 の単量体 Fc ポリペプチドおよび第 2 の単量体 Fc ポリペプチドを含み、

第 1 および第 2 の単量体 Fc ポリペプチドがそれぞれ独立に、ホモ二量体 Fc 領域と比較して前記ヘテロ二量体 Fc 領域の形成を促進するアミノ酸突然変異を含み、

第 1 および第 2 の単量体 Fc ポリペプチドの少なくとも一方がアミノ酸突然変異 T 350 V 、 T 350 I 、 T 350 L 、または T 350 M をさらに含み；

前記単一ドメイン抗原結合構築物が、重鎖抗体構築物であるかまたは SH3 誘導性フィノマーもしくはフィプロネクチン誘導性結合ドメインから誘導され、かつ、第 1 および第 2 の単量体 Fc ポリペプチドの一方に結合しており；

前記単離ヘテロ多量体が免疫グロブリン軽鎖を欠いており；

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、74 以上の融解温度 (Tm) および 95 % 以上の純度を有し；かつ

アミノ酸残基の番号付けが、Kabat により記載された EU インデックスに従っている、単離ヘテロ多量体。

**【手続補正 2】**

**【補正対象書類名】**明細書

**【補正対象項目名】**0068

**【補正方法】**変更

**【補正の内容】**

**【0068】**

本明細書に記載されているヘテロ多量体がクローンされた細胞または生物体であって、当該ヘテロ多量体が、二量体 Fc 領域の少なくとも 1 つの単量体に結合している少なくとも 1 つの単一ドメイン抗原結合構築物を含む、細胞または生物体が、本明細書において提供される。そのような細胞または生物体は、所望の事前に選択された特異性、または対応する特定のレパートリーを有するヘテロ多量体を产生する目的に使用され得る。これらは、また、それらが発現された細胞の代謝を修飾する目的で产生され得る。一実施形態において、ヘテロ二量体の少なくとも 1 つの単量体に結合している少なくとも 1 つの単一ドメイン抗原結合構築物を含むヘテロ多量体は、植物細胞、特に遺伝子導入植物において产生される。

**[本発明1001]**

少なくとも 1 つの単一ドメイン抗原結合構築物および免疫グロブリンヘテロ二量体 Fc 領域を含む単離ヘテロ多量体であって、前記免疫グロブリンヘテロ二量体 Fc 領域が、2 つの単量体 Fc ポリペプチドを含み、前記単一ドメイン抗原結合構築物が、一方の単量体 Fc ポリペプチドに結合し、

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、未変性ホモ二量体 Fc 領域に匹敵する安定性を有する前記ヘテロ二量体 Fc 領域の形成を促進するアミノ酸突然変異を含む変種 CH3 ドメインを含み、

前記単離ヘテロ多量体が、免疫グロブリン軽鎖および免疫グロブリンの第 1 の定常 (CH1) 領域を欠いている、単離ヘテロ多量体。

**[本発明1002]**

一方の単量体 Fc ポリペプチドに結合している 1 つの単一ドメイン抗原結合構築物を含む、本発明1001の単離ヘテロ多量体。

**[本発明1003]**

一方の単量体 Fc ポリペプチドに結合している 1 つの単一ドメイン抗原結合構築物と、

他方の単量体 F c ポリペプチドに結合している第2の單一ドメイン抗原結合構築物とを含む、本発明1001の単離ヘテロ多量体。

[本発明1004]

両方の單一ドメイン抗原結合構築物が同じエピトープに結合する、本発明1003の単離ヘテロ多量体。

[本発明1005]

前記1つの單一ドメイン抗原結合構築物が1つのエピトープに結合し、前記第2の單一ドメイン抗原結合構築物が異なるエピトープに結合する、本発明1003の単離ヘテロ多量体。

[本発明1006]

前記單一ドメイン抗原結合構築物が、單一ドメイン抗体 (s d A b または V H ) 、ラクダ科動物のナノボディ (V<sub>h</sub> H ) 、軟骨魚類 (V<sub>N A R</sub> ) 、S H 3誘導性フィノマー、およびフィブロネクチン誘導性結合ドメインから選択される、本発明1001～1005のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1007]

前記單一ドメイン抗原結合構築物がラクダ科動物のナノボディ (V<sub>h</sub> H ) である、本発明1001～1006のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1008]

前記單一ドメイン抗原結合構築物が、I L 2、I F N a - 2 a / b 、I F N - 1 a / b 、I L - 21、I L - 17 a 、T N F 、I L 23、V E G F 、およびA N G 2から選択される1つ以上のサイトカインまたはケモカインに結合する、本発明1001～1007のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1009]

前記單一ドメイン抗原結合構築物が、E p C a m 、E G F R 、V E G F R 、C E A 、またはG P 100のような1つ以上の腫瘍関連抗原に結合する、本発明1001～1007のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1010]

前記單一ドメイン抗原結合構築物が、C D 16、C D 30、C D 137、C D 22、C D 52、C D 80、C D 23、C D 2、C D 4、C D 40、K I R 、C D 32 b 、C D 25、L A G 3 、またはB 7 - H 3のような1つ以上の免疫調節抗原に結合する、本発明1001～1007のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1011]

前記單一ドメイン抗原結合構築物が、クロストリジウム・ディフィシル毒素A、クロストリジウム・ディフィシル毒素Bのような1つ以上の細菌性毒素に結合する、本発明1001～1007のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1012]

前記單一ドメイン抗原結合構築物がE G F R 1に結合する、本発明1001～1007のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1013]

前記單一ドメイン抗原結合構築物がE G F R 1突然変異変種E G F R v I I I に結合する、本発明1001～1007のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1014]

ヘテロ二量体 F c 領域の少なくとも1つの単量体に結合している少なくとも1つの單一ドメイン抗原結合構築物を含む単離ヘテロ多量体であって、前記ヘテロ二量体 F c 領域が、未変性ホモ二量体 F c に匹敵する安定性を有する前記ヘテロ二量体の形成を促進するアミノ酸突然変異を含む変種C H 3領域を含み、前記単離ヘテロ多量体が、免疫グロブリン軽鎖を欠いている、単離ヘテロ多量体。

[本発明1015]

ヘテロ二量体 F c 領域の少なくとも1つの単量体に結合している少なくとも1つの單一ドメイン抗原結合構築物を含む単離ヘテロ多量体であって、

前記ヘテロ二量体 F c 領域が、未変性ホモ二量体 F c に匹敵する安定性を有する前記ヘテ

ヘテロ二量体の形成を促進するアミノ酸突然変異を含む変種定常ドメインを含み、前記単離ヘテロ多量体が、免疫グロブリン軽鎖を欠いている、単離ヘテロ多量体。

[本発明1016]

ヘテロ二量体 Fc 領域の少なくとも1つの単量体に結合している少なくとも1つの單一ドメイン抗原結合構築物を含む単離ヘテロ多量体であって、

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、未変性ホモ二量体 Fc 領域に匹敵する安定性を有する前記ヘテロ二量体の形成を促進するアミノ酸突然変異を含む変種定常ドメインを含み、前記単離ヘテロ多量体が、免疫グロブリン軽鎖および免疫グロブリンの第1の定常 (CH1) 領域を欠いている、単離ヘテロ多量体。

[本発明1017]

前記単一ドメイン抗原結合構築物が、ラクダ科動物または軟骨魚類から誘導される、本発明1014～1016のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1018]

前記ラクダ科動物がラマである、本発明1017の単離ヘテロ多量体。

[本発明1019]

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、安定性を増加したヘテロ二量体の形成を促進するアミノ酸突然変異を含む変種 CH3ドメインを形成する第1および第2の Fc ポリペプチドを含み、前記アミノ酸突然変異が、アミノ酸突然変異を含まない CH3ドメインと比較して安定性を増加したヘテロ二量体 Fc 領域の形成を促進し、前記変種 CH3ドメインが、約70以上の融解温度 (Tm) を有する、本発明1001～1018のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1020]

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、野生型 Fc 領域と比べて CH3ドメインに追加のジスルフィド結合を含まない、本発明1001～1019のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1021]

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、野生型 Fc 領域と比べて前記変種 CH3ドメインに追加のジスルフィド結合を含むが、但し、前記 CH3ドメインの約70 を超える前記融解温度 (Tm) が前記追加のジスルフィド結合の不在下のものであることを条件とする、本発明1019または1020の単離ヘテロ多量体。

[本発明1022]

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、約90%を超える純度を有する、本発明1019～1021のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1023]

前記ヘテロ二量体 Fc 領域が、約98%以上の純度を有する、本発明1019～1022のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1024]

前記 Tm が約74 以上である、本発明1019～1023のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1025]

第1の CH3ドメインポリペプチドが、F405およびY407の位置にアミノ酸修飾を含み、第2の CH3ドメインポリペプチドが、T394の位置にアミノ酸修飾を含む、本発明1019～1024のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1026]

前記第1の Fc ポリペプチドが、L351Y、Y405A、およびY407V から選択される1つ以上のアミノ酸修飾を含み、前記第2の Fc ポリペプチドが、T366L、T366I、K392L、K392M、およびT394W から選択される1つ以上のアミノ酸修飾を含む、本発明1019～1025のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1027]

第1の Fc ポリペプチドが、D399およびY407の位置にアミノ酸修飾を含み、第2の Fc ポリペプチドが、K409およびT411の位置にアミノ酸修飾を含む、本発明1019～1026のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1028]

前記ヘテロ二量体 F c 領域が、

野生型 C H3ドメインポリペプチドと比較して少なくとも3つのアミノ酸修飾を含む第1の修飾 C H3ドメインを含む第1の単量体 F c ポリペプチド、および野生型 C H3ドメインポリペプチドと比較して少なくとも3つのアミノ酸修飾を含む第2の修飾 C H3ドメインを含む第2の単量体 F c ポリペプチド、を含み、

前記第1および第2の C H3ドメインの一方が、K392Jにアミノ酸修飾を含み、Jが、L、I、M、または側鎖量がKの側鎖量より大幅に大きくなれないアミノ酸から選択され、前記第1および第2の修飾 C H3ドメインポリペプチドが、少なくとも約74 °Cの融解温度 (Tm) および少なくとも95%の純度を有するヘテロ二量体 C H3ドメインを優先的に形成し、少なくとも1つのアミノ酸修飾が、前記第1と前記第2の C H3ドメインポリペプチドの間の界面にあるアミノ酸のものではない、本発明1001～1027のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1029]

少なくとも1つのT350X修飾を含み、Xが、バリン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、およびその誘導体、または変種から選択される天然または非天然のアミノ酸である、本発明1019～1028のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1030]

少なくとも1つのT350V修飾を含む、本発明1019～1029のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1031]

前記第1および第2の F c ポリペプチドが、それぞれ、T350V修飾を更に含む、本発明1019～1030のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1032]

前記修飾 C H3ドメインが約77 °C以上のTmを有する、本発明1031の単離ヘテロ多量体。

[本発明1033]

少なくとも1つの単量体 F c ポリペプチドが、修飾 S400Zを含み、Zが、正荷電アミノ酸および負荷電アミノ酸から選択される、本発明1019～1032のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1034]

前記第1の F c ポリペプチドが、S400E、S400D、S400K、およびS400Rから選択されるアミノ酸修飾を含む、本発明1033の単離ヘテロ多量体。

[本発明1035]

前記第1および第2の F c ポリペプチドの一方が、S400EおよびS400Rから選択される前記アミノ酸修飾を含み、他方の F c ポリペプチドが、N390の位置にアミノ酸修飾を含む、本発明1034の単離ヘテロ多量体。

[本発明1036]

修飾 N390Zを含み、Zが、正荷電アミノ酸および負荷電アミノ酸から選択される、本発明1035の単離ヘテロ多量体。

[本発明1037]

前記第2の F c ポリペプチドが、アミノ酸修飾 N390RまたはN390Kを含む、本発明1035の単離ヘテロ多量体。

[本発明1038]

前記第1の F c ポリペプチドが、前記アミノ酸修飾 S400Eを含む修飾 C H3ドメインポリペプチドであり、前記第2の F c ポリペプチドが、前記アミノ酸修飾 N390Rを含む修飾 C H3ドメインポリペプチドである、本発明1019～1037のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1039]

一方の前記 F c ポリペプチドがアミノ酸修飾 Q347Rを含み、他方の F c ポリペプチドがアミノ酸修飾 K360Eを含む、本発明1001～1038のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1040]

前記 F c ポリペプチドアミノが、T366V、T366I、T366A、T366M、T366L、K4

09 F、T 411 E、および T 411 D から選択される少なくとも1つのアミノ酸修飾を含み、前記第2の F c ポリペプチドが、L 351 Y、Y 407 A、Y 407 I、Y 407 V、D 399 R、および D 399 K から選択される少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む、本発明1001～1039のいずれかの単離ヘテロ多量体、

[本発明1041]

前記ヘテロ二量体 F c 領域が、F c ガンマ受容体への選択的結合を促進する非対称アミノ酸修飾を含む変種 C H2ドメインを更に含む、本発明1001～1040のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1042]

前記変種 C H2ドメインが、野生型 C H2ドメインと比較して、F c ガンマ I I I a 受容体に選択的に結合する、本発明1001～1041のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1043]

G型免疫グロブリン (IgG) に基づいた F c 構築物を含む、本発明1001～1042のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1044]

前記 IgG が、IgG1、IgG2 IgG3、および IgG4 のうちの1つである、本発明1043の単離ヘテロ多量体。

[本発明1045]

免疫グロブリンM (IgM)、免疫グロブリンA (IgA)、免疫グロブリンD (IgD)、または免疫グロブリンE (IgE) に基づいた F c 構築物を含む、本発明1001～1044のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1046]

前記ヘテロ多量体が、二重特異的抗体または多特異的抗体である、本発明1001～1045のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1047]

少なくとも1つの單一ドメイン抗原結合構築物が、EGFR または EGFRvIII に結合する、本発明1001～1046のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1048]

前記EGFR または EGFRvIII 結合構築物が、抗体またはそのフラグメントから誘導される、本発明1047の単離ヘテロ多量体。

[本発明1049]

前記EGFR または EGFRvIII 結合構築物が、重鎖抗体構築物である、本発明1047の単離ヘテロ多量体。

[本発明1050]

前記重鎖抗体構築物がラクダ科動物の構築物である、本発明1049の単離ヘテロ多量体。

[本発明1051]

前記ラクダ科動物の構築物が、図44に示される配列を含む、本発明1050の単離ヘテロ多量体。

[本発明1052]

本発明1001～1051のいずれかの単離ヘテロ多量体および薬学的に許容される担体を含む、組成物。

[本発明1053]

本発明1001～1051のいずれかの単離ヘテロ多量体をコードする核酸を含む、哺乳類宿主細胞。

[本発明1054]

前記單一ドメイン抗原結合構築物が、少なくとも1つの治療抗体と結合を競合する、本発明1001～1051のいずれかの単離ヘテロ多量体。

[本発明1055]

前記少なくとも1つの治療抗体が、アバゴボマブ、アダリムマブ、アレムツズマブ、アウログラブ、バピネオズマブ、バシリキシマブ、ベリムマブ、ベバシズマブ、ブリアキヌ

マブ、カナキヌマブ、カツマキソマブ、セルトリズマブペゴル、セツキシマブ、ダクリズマブ、デノスマブ、エファリズマブ、ガリキシマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、ゴリムマブ、イブリツモマブチウキセタン、インフリキシマブ、イピリムマブ、ルミリキシマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、ムロモナブ、ミコグラブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、オクレリズマブ、オファツムマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パニツムマブ、ペルツズマブ、ラニビズマブ、レスリズマブ、リツキシマブ、テプリズマブ、トシリズマブ／アトリズマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ、Prox in ium（商標）、Ren carex（商標）、ウステキヌマブ、およびザルツムマブからなる群から選択される、本発明1054の単離ヘテロ多量体。

[本発明1056]

癌抗原により特徴付けられる癌を有する患者において癌を治療する方法であって、前記患者に治療有効量の本発明1001～1051のいずれかの単離ヘテロ多量体を投与することを含む、前記方法。

[本発明1057]

前記癌が、EGFRまたはEGFRvIIIの過剰発現により特徴付けられる、本発明1056の方法。

[本発明1058]

EGFRまたはEGFRvIIIを過剰発現する癌細胞を治療する方法であって、前記細胞を本発明1047～1051のうちのいずれかにおいて提供される、ある量のヘテロ多量体と接触させることを含む、方法。

[本発明1059]

前記癌細胞が、乳癌細胞、肺癌細胞、肛門癌細胞、および神経膠芽腫のうちの少なくとも1つである、本発明1058の方法。

[本発明1060]

別の治療分子に加えて、前記ヘテロ多量体を投与することを含む、本発明1056～1059のいずれかの方法。

[本発明1061]

前記治療分子がヘテロ多量体と複合体化している、本発明1060の方法。

[本発明1062]

免疫抗原により特徴付けられる免疫障害を有する患者において免疫障害を治療する方法であって、前記患者に治療有効量の本発明1001～1051のいずれかの単離ヘテロ多量体を投与することを含む、前記方法。