

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-530498

(P2021-530498A)

(43) 公表日 令和3年11月11日 (2021. 11. 11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	4 B 0 6 4
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28 Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 C 0 8 5
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 Z	4 H 0 4 5
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 348 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2021-500858 (P2021-500858)	(71) 出願人	508134441
(86) (22) 出願日	令和1年7月11日 (2019. 7. 11)		モメンタ ファーマシューティカルズ インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	令和3年3月10日 (2021. 3. 10)		アメリカ合衆国 02142 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビニー ストリート 301
(86) 国際出願番号	PCT/US2019/041468	(74) 代理人	100092783
(87) 国際公開番号	W02020/014526		弁理士 小林 浩
(87) 国際公開日	令和2年1月16日 (2020. 1. 16)	(74) 代理人	100095360
(31) 優先権主張番号	62/696, 759		弁理士 片山 英二
(32) 優先日	平成30年7月11日 (2018. 7. 11)	(74) 代理人	100120134
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 大森 規雄
(31) 優先権主張番号	62/733, 036	(74) 代理人	100149010
(32) 優先日	平成30年9月18日 (2018. 9. 18)		弁理士 星川 亮
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 CD 38 を標的とする改変 F c 抗原結合ドメイン構築体に関する組成物および方法

(57) 【要約】

CD 38 結合ドメインおよび2つ以上の F c ドメインを有する F c 抗原結合ドメイン構築体が、そのような構築体を使用するための方法とともに説明される。かかる構築体を構成するポリペプチドも記載される。それらの構築体中に含まれる F c ドメイン単量体は、ホモ二量体形成またはヘテロ二量体形成を促進するアミノ酸置換を含み得る。

【選択図】 図 1

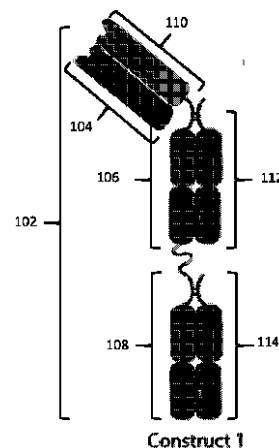


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C D 3 8 結合ドメインと、リンカーによって第 2 の F c ドメインに結合された第 1 の F c ドメインとを含む、F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

前記第 1 および第 2 の F c ドメインの各々が、ヘテロ二量体化選択性モジュールまたはホモ二量体化選択性モジュールのいずれかを含む、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2】

C D 3 8 結合ドメインと、リンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、第 2 のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、任意選択の第 3 のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む任意選択の第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体とを含む、ポリペプチドであって、

少なくとも 2 つの F c ドメイン単量体が、ヘテロ二量体化選択性モジュールまたはホモ二量体化選択性モジュールのいずれかを含む、ポリペプチド。

【請求項 3】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、抗体重鎖可変ドメインを含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 4】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、抗体軽鎖可変ドメインを含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 5】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含み、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含み、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 7】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 2 の I g G 定常ドメイン単量体の両方が、改変された突起を形成する変異を含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 8】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体、および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が各々、改変された突起を形成する変異を含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第 2 の I g G 1 ドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

10

20

30

40

50

10

20

30

40

EUのI253位の各アミノ酸変異が独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択される、請求項20に記載のポリペプチド。

【請求項 2 2】

I 2 5 3 位の各アミノ酸変異が、I 2 5 3 Aである、請求項 2 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 3】

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも 1 つが、E U の R 2 9 2 位に単一アミノ酸変異を含む、請求項 2 ～ 2 2 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 2 4】

E U の R 2 9 2 位の各アミノ酸変異が独立して、R 2 9 2 D、R 2 9 2 E、R 2 9 2 L、R 2 9 2 P、R 2 9 2 Q、R 2 9 2 R、R 2 9 2 T、および R 2 9 2 Y からなる群から選択される、請求項 2 3 に記載のポリペプチド。

10

【請求項 2 5】

R 2 9 2 位の各アミノ酸変異が、R 2 9 2 Pである、請求項 2 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 6】

各 F c ドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L および D K T H T C P P C P A P E L L からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項 2 ～ 2 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 2 7】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L を有する、請求項 2 6 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 2 8】

前記第 1 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L を有する、請求項 2 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 9】

前記第 1 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L を有し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L を有する、請求項 2 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 3 0】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが独立して、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
を含む、請求項 2 ～ 2 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

30

【請求項 3 1】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
を含む、請求項 2 ～ 2 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【請求項 3 2】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
を含む、請求項 2 ～ 2 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 3 3】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、請求項 2～29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 34】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 2～29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 35】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 2～29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 36】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 2～29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 37】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 2～29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 38】

前記単一アミノ酸置換が、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択される、請求項 30～37 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 39】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 2～29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 40】

前記単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、前記 C H 3 ドメイン内の逆電荷変異であるか、または改変された突起を形成する変異である、請求項 39 に記載のポリペプチド。

【請求項 41】

前記単一アミノ酸置換が、E U の G 3 4 1 位～E U の K 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 39 に記載のポリペプチド。

【請求項 42】

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、および T 3 9 4 F からなる群から選択される、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 43】

前記 2 つまたは 4 つの逆電荷変異が、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3

10

20

30

40

50

56K、およびD356Rから選択される、請求項5、6、および9～29のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項44】

前記CD38結合ドメインが、scFvである、請求項2～43のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項45】

前記CD38結合ドメインが、VHドメインおよびCH1ドメインを含む、請求項2～43のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項46】

前記CD38結合ドメインが、VLドメインをさらに含む、請求項43に記載のポリペプチド。

10

【請求項47】

前記VHドメインが、表1に記載のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列のセットを含む、請求項45に記載のポリペプチド。

【請求項48】

前記VHドメインが、表2に記載の抗体の配列を含むVHドメインのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む、請求項45に記載のポリペプチド。

【請求項49】

前記VHドメインが、表2に記載の抗体のVH配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、前記VH配列が、前記CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列を除き、表2に記載の抗体のVH配列と少なくとも95%または98%同一である、請求項45に記載のポリペプチド。

20

【請求項50】

前記VHドメインが、表2に記載の抗体のVH配列を含む、請求項45に記載のポリペプチド。

【請求項51】

前記CD38結合ドメインが、表1に記載されるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列のセットを含む、請求項45に記載のポリペプチド。

【請求項52】

前記CD38結合ドメインが、表2に記載される抗体のVH配列およびVL配列のセットからのCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を含む、請求項45に記載のポリペプチド。

30

【請求項53】

前記CD38結合ドメインが、表2に記載される抗体のVH配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むVHドメイン、ならびに表2に記載される抗体のVL配列のCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むVLドメインを含み、前記VHドメイン配列およびVLドメイン配列が、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3の配列を除き、表2に記載される抗体のVH配列およびVL配列に対して少なくとも95%または98%同一である、請求項45に記載のポリペプチド。

40

【請求項54】

前記CD38結合ドメインが、表2に記載される抗体のVH配列およびVL配列のセットを含む、請求項45に記載のポリペプチド。

【請求項55】

前記CD38結合ドメインが、IgG CL抗体定常ドメインおよびIgG CH1抗体定常ドメインを含む、請求項2～43のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項56】

前記CD38結合ドメインが、VHドメインおよびCH1ドメインを含み、VLドメインおよびCLドメインを含むポリペプチドに結合してFabを形成することができる、請

50

求項 2～4 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 5 7】

前記第 1 または第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体の前記ヒンジ内のシステイン残基間のジスルフィド結合によって結合される請求項 2～5 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドの 2 つのコピーを含む、ポリペプチド複合体。

【請求項 5 8】

ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む I g G 1 F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドに結合される、請求項 2～5 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、ポリペプチド複合体であって、

前記ポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドが、前記ポリペプチドの前記第 1、第 2、または第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の前記ヒンジドメイン内および前記第 2 のポリペプチドの前記ヒンジドメイン内のシステイン残基間のジスルフィド結合により結合される、

ポリペプチド複合体。

【請求項 5 9】

前記第 2 のポリペプチド単量体が、改変された空洞を形成する変異を含む、請求項 5 8 に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 6 0】

前記改変された空洞を形成する前記変異が、Y 4 0 7 T、Y 4 0 7 A、F 4 0 5 A、T 3 9 4 S、T 3 9 4 W/Y 4 0 7 A、T 3 6 6 W/T 3 9 4 S、T 3 6 6 S/L 3 6 8 A/Y 4 0 7 V/Y 3 4 9 C、S 3 6 4 H/F 4 0 5 A からなる群から選択される、請求項 5 9 に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 6 1】

前記第 2 のポリペプチドが、最大 1 0 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 5 8～6 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 6 2】

C D 3 8 結合ドメインと、リンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、第 2 のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、任意選択の第 3 のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む任意選択の第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体とを含む、ポリペプチドであって、

少なくとも 1 つの F c ドメイン単量体が、1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、ポリペプチド。

【請求項 6 3】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、抗体重鎖可変ドメインを含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 4】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、抗体軽鎖可変ドメインを含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 5】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含み、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 6】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A および表 4 B A および表 4 B 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセッ

10

20

30

40

50

ト、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 7】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 2 の I g G 定常ドメイン単量体の両方が、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 8】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体、および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が各々、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、
請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

10

【請求項 6 9】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、
請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 7 0】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 2 の I g G 1 ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、
請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 1】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 1 の I g G 1 ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、
請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

30

【請求項 7 2】

表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む前記 I g G 1 F c ドメイン単量体が、同一の C H 3 ドメインを有する、請求項 6 2 ～ 7 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【請求項 7 3】

表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異が、C H 3 ドメインにある、請求項 6 2 ～ 7 2 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 7 4】

前記変異が、E U の G 3 4 1 位～E U の K 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 7 3 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 5】

前記変異が各々、単一アミノ酸変化である、請求項 6 2 ～ 7 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 7 6】

50

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、
 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSG, SGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,
 GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGGS, GSGGSGGS, GSGGSGGSGGS, GSG, GSG,
 GSGGGSG, GSGGSGGSGSGGGGSGGGGSGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS,
 RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,
 AAANSSIDLISVPVDSR, GSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS,
 GSGGGSGGGS, SGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGSGGSGGSGGSGGGS, GGG,
 GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGG

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項 72 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 7】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、グリシンスペーサーである、請求項 62 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 8】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが独立して、4～30、4～20、8～30、8～20、12～20、または12～30個のグリシン残基からなる、請求項 62 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 9】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、20 個のグリシン残基からなる、請求項 62 に記載のポリペプチド。

【請求項 80】

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも 1 つが、E U の I 2 5 3 位に単一アミノ酸変異を含む、請求項 6 2 ～ 7 9 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 1】

EUのI253位の各アミノ酸変異が独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択される、請求項80に記載のポリペプチド。

【請求項 8 2】

1253位の各アミノ酸変異が、1253Aである、請求項81に記載のポリペプチド

【請求項 8 3】

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも 1 つが、E U の R 2 9 2 位に単一アミノ酸変異を含む、請求項 6 2 ～ 8 2 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 84】

EUのR292位の各アミノ酸変異が独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択される、請求項83に記載のポリペプチド。

【請求項 85】

Ｒ２９２位の各アミノ酸変異が、Ｒ２９２Ｐである、請求項８４に記載のポリペプチド

【請求項 86】

各Fcドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELLおよびDKTHTCPPCPAPELLからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項62～85のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 87】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 DKTHTCP PC PAPELL を有する、請求項 86 に記載のポリペ 50

プチド。

【請求項 88】

前記第1のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELを有する、請求項86に記載のポリペプチド。

【請求項 89】

前記第1のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELを有し、前記第2のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELLを有する、請求項86に記載のポリペプチド。

【請求項 90】

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、請求項62～89のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 91】

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、請求項62～89のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 92】

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、請求項62～89のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 93】

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、請求項62～89のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 94】

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、10個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項62～89のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 95】

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、8つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項62～89のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 96】

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、6つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項62～89のいずれか一項に記載のポリペプチド。

10

20

30

40

50

【請求項 97】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、5つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 98】

前記単一アミノ酸置換が、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択される、請求項 90～97 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

10

【請求項 99】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 100】

前記単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、前記 C H 3 ドメイン内の逆電荷変異である、請求項 99 に記載のポリペプチド。

【請求項 101】

前記単一アミノ酸置換が、E U の G 3 4 1 位～E U の K 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 99 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 102】

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、および T 3 9 4 F からなる群から選択される、請求項 62 に記載のポリペプチド。

【請求項 103】

前記 2 つまたは 4 つの逆電荷変異が、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R から選択される、請求項 65、66、および 69～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

30

【請求項 104】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、s c F v である、請求項 62～103 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 105】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、V H ドメインおよび C H 1 ドメインを含む、請求項 62～103 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 106】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、V L ドメインをさらに含む、請求項 103 に記載のポリペプチド。

40

【請求項 107】

前記 V H ドメインが、表 1 に記載の C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 配列のセットを含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 108】

前記 V H ドメインが、表 2 に記載の抗体の配列を含む V H ドメインの C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 109】

前記 V H ドメインが、表 2 に記載の抗体の V H 配列の C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含み、前記 V H 配列が、前記 C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 配列を除き、表 2 に記載の抗体の V H 配列と少なくとも 95% または 98% 同

50

一である、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 110】

前記 V H ドメインが、表 2 に記載の抗体の V H 配列を含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 111】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、表 1 に記載される C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 の配列のセットを含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 112】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V H 配列および V L 配列のセットからの C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 の配列を含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

10

【請求項 113】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 を含む V H ドメイン、ならびに表 2 に記載される抗体の V L 配列の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 を含む V L ドメインを含み、前記 V H ドメイン配列および V L ドメイン配列が、C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2 および C D R - L 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列および V L 配列に対して少なくとも 95% または 98% 同一である、請求項 105 に記載のポリペプチド。

20

【請求項 114】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V H 配列および V L 配列のセットを含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 115】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、I g G C L 抗体定常ドメインおよび I g G C H 1 抗体定常ドメインを含む、請求項 62 ~ 103 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 116】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、V H ドメインおよび C H 1 ドメインを含み、V L ドメインおよび C L ドメインを含むポリペプチドに結合して F a b を形成することができる、請求項 62 ~ 103 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

30

【請求項 117】

前記第 1 または第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体の前記ヒンジ内のシステイン残基間のジスルフィド結合によって結合される請求項 2 ~ 56 のいずれか一項に記載のポリペプチドの 2 つのコピーを含む、ポリペプチド複合体。

【請求項 118】

ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む I g G 1 F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドに結合される請求項 62 ~ 116 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、ポリペプチド複合体であって、

前記ポリペプチドと前記第 2 のポリペプチドが、前記ポリペプチドの前記第 1、第 2、または第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の前記ヒンジドメイン内のシステイン残基と前記第 2 のポリペプチドの前記ヒンジドメイン内のシステイン残基との間のジスルフィド結合によって結合される、ポリペプチド複合体。

40

【請求項 119】

前記第 2 のポリペプチド単量体が、1、2、または 3 つの逆電荷変異を含む、請求項 118 に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 120】

前記第 2 のポリペプチド単量体が、表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷変異を含み、かつ前記ポリペプチド内の前記表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷変異に対して相補的である、請求項 129 に記載の

50

ポリペプチド複合体。

【請求項 1 2 1】

前記第 2 のポリペプチドが、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 1 18～1 20 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 1 2 2】

ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む第 1 の IgG1 Fcドメイン単量体と、第 2 のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む第 2 の IgG1 Fcドメイン単量体と、任意選択の第 3 のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む任意選択の第 3 の IgG1 Fcドメイン単量体とを含む、ポリペプチドであって、

少なくとも 1 つの Fcドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、ポリペプチド。

【請求項 1 2 3】

前記第 1 の IgG1 単量体のアミノ末端に抗体重鎖可変ドメインおよびCH1ドメインをさらに含む、請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 4】

前記第 1 の IgG1 単量体のアミノ末端に scFv をさらに含む、請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 5】

前記第 1 の IgG1 Fcドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含み、前記第 2 の IgG1 Fcドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 6】

前記第 1 の IgG1 Fcドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含み、前記第 2 の IgG1 Fcドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含む、請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 7】

前記第 1 の IgG1 Fcドメイン単量体および前記第 2 の IgG 定常ドメイン単量体の両方が、改変された突起を形成する変異を含む、請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 8】

第 3 のリンカーと、第 3 の IgG1 Fcドメイン単量体と、を含み、

前記第 1 の IgG1 Fcドメイン単量体、前記第 2 の IgG1 Fcドメイン単量体、および前記第 3 の IgG1 Fcドメイン単量体が各々、改変された突起を形成する変異を含む、

請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 9】

第 3 のリンカーと、第 3 の IgG1 Fcドメイン単量体と、を含み、

前記第 1 の IgG1 Fcドメイン単量体および前記第 2 の IgG1 Fcドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第 3 の IgG1 Fcドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含む、

請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 3 0】

第 3 のリンカーと、第 3 の IgG1 Fcドメイン単量体と、を含み、

前記第 1 の IgG1 Fcドメイン単量体および前記第 3 の IgG1 Fcドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第 2 の IgG1 ドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含む、

請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 3 1】

10

20

30

40

50

第3のリンカーと、第3の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第2の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第1の I g G 1 ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、
請求項122に記載のポリペプチド。

【請求項132】

改変された突起を形成する変異を含む前記 I g G 1 F c ドメイン単量体が、1、2、または3つの逆電荷変異をさらに含む、請求項122～131のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項133】

前記改変された突起を形成する変異および前記逆電荷変異が、前記 C H 3 ドメイン内にある、請求項122～131のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項134】

ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第1の I g G 1 F c ドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第2の I g G 1 F c ドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む任意選択の第3の I g G 1 F c ドメイン単量体と
を含む、ポリペプチドであって、

少なくとも1つの F c ドメイン単量体が、1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、ポリペプチド。

【請求項135】

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体のアミノ末端に抗体重鎖可変ドメインおよび C H 1 ドメインをさらに含む、請求項134に記載のポリペプチド。

【請求項136】

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体のアミノ末端に s c F v をさらに含む、請求項134に記載のポリペプチド。

【請求項137】

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表4Aに記載のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Bに記載のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み、前記第2の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、請求項134に記載のポリペプチド。

【請求項138】

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第2の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表4Aに記載のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Bに記載のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、請求項134に記載のポリペプチド。

【請求項139】

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第2の I g G 定常ドメイン単量体の両方が、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、請求項134に記載のポリペプチド。

【請求項140】

第3のリンカーと、第3の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体、前記第2の I g G 1 F c ドメイン単量体、および前記第3の I g G 1 F c ドメイン単量体が各々、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、
請求項134に記載のポリペプチド。

【請求項141】

10

20

30

40

50

【請求項 142】

請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 3】

請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 144】

表 4 A または 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む前記 I g G 1 F c ドメイン単量体が、同一の C H 3 ドメインを有する、請求項 1 3 4 ~ 1 4 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 5】

表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異が、C H 3 ドメインにある、請求項 1 3 4 ~ 1 4 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 146】

前記変異が、EUのG 3 4 1 位～EUのK 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 1 2 2～1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 147】

前記変異が各々、単一アミノ酸変化である、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 148】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、
GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGS, GSGS, SGGS, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,
GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGS, GSGS,
GSGSGSGS, GSGSGSGSGSGSGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGG, GENLYFQSGG, SACYCELS,
RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,
AAANSSIDLISVPVDSR, GSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGG,
GGGSGGGSGGGG, SGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGG, GGGG,
GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGGG
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項 1 2 2 ~
1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 149】

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが独立して、4～30、4～

20、8～30、8～20、12～20、または12～30個のグリシン残基からなる、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項150】

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、20個のグリシン残基からなる、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項151】

前記Fcドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、EUのI253位に単一アミノ酸変異を含む、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項152】

EUのI253位の各アミノ酸変異が独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択される、請求項151に記載のポリペプチド。

10

【請求項153】

I253位の各アミノ酸変異が、I253Aである、請求項152に記載のポリペプチド。

【請求項154】

前記Fcドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、EUのR292位に単一アミノ酸変異を含む、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

20

【請求項155】

EUのR292位の各アミノ酸変異が独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択される、請求項154のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項156】

R292位の各アミノ酸変異が、R292Pである、請求項155に記載のポリペプチド。

【請求項157】

各Fcドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELおよびDKTHTCPPCPAPELからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

30

【請求項158】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELを有する、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項159】

前記第1のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELを有する、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【請求項160】

前記第1のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELを有し、前記第2のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELを有する、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項161】

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列
GGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

50

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 2】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 5】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 6】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 7】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 8】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 9】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 0】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 1】

前記単一アミノ酸置換が、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択される、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 2】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列

10

20

30

40

50

番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 122～145 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 173】

前記単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、前記 CH3 ドメイン内の逆電荷変異である、請求項 99 に記載のポリペプチド。

【請求項 174】

前記単一アミノ酸置換が、EU の G341 位～EU の K447 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 173 に記載のポリペプチド。

【請求項 175】

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T366Y、T366W、T394W、T394Y、F405W、S354C、Y349T、および T394F からなる群から選択される、請求項 122～145 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

10

【請求項 176】

前記 2 つまたは 4 つの逆電荷変異が、K409D、K409E、K392D、K392E、K370D、K370E、D399K、D399R、E357K、E357R、D356K、および D356R から選択される、請求項 122～145 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 178】

前記 VH ドメインまたは scFv が、表 1 に記載の CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 配列のセットを含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

20

【請求項 179】

前記 VH ドメインまたは scFv が、表 2 に記載の抗体の配列を含む VH ドメインの CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 を含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 180】

前記 VH ドメインまたは scFv が、表 2 に記載の抗体の VH 配列の CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 を含み、前記 VH 配列が、前記 CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 の配列を除き、表 2 に記載の抗体の VH 配列と少なくとも 95 % または 98 % 同一である、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

30

【請求項 181】

前記 VH ドメインまたは scFv が、表 2 に記載の抗体の VH 配列を含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 182】

前記 VH ドメインまたは scFv が、表 1 に記載の CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、および CDR-L3 配列のセットを含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 183】

前記 VH ドメインまたは scFv が、表 2 に記載の抗体の VH 配列および VL 配列のセット由来の CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、および CDR-L3 配列を含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【請求項 184】

前記 VH ドメインまたは scFv メインが、表 2 に記載の抗体の VH 配列の CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 を含む VH ドメインと、表 2 に記載の抗体の VL 配列の CDR-L1、CDR-L2、および CDR-L3 を含む VL ドメインと、を含み、前記 VH ドメイン配列および前記 VL ドメイン配列が、前記 CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、および CDR-L3 の配列を除き、表

50

2に記載の抗体のVH配列およびVL配列と少なくとも95%または98%同一である、請求項123、124、135、および136のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項185】

前記VHドメインまたはscFvが、表2に記載の抗体のVH配列およびVL配列のセットを含む、請求項123、124、135、および136のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項186】

IgG CL抗体定常ドメインと、IgG CH1抗体定常ドメインと、をさらに含む、請求項122～145のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項187】

請求項2～187のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする、核酸分子。

【請求項188】

請求項187に記載の核酸分子を含む、発現ベクター。

【請求項189】

請求項187に記載の核酸分子を含む、宿主細胞。

【請求項190】

請求項188に記載の発現ベクターを含む、宿主細胞。

【請求項191】

請求項189または請求項190に記載の宿主細胞を、前記ポリペプチドを発現させる条件下で培養することを含む、請求項2～187のいずれか一項に記載のポリペプチドを産生する方法。

【請求項192】

抗体VLドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項189に記載の宿主細胞。

【請求項193】

抗体VLドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項190に記載の宿主細胞。

【請求項194】

抗体VLドメインおよび抗体CLドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項189に記載の宿主細胞。

【請求項195】

抗体VLドメインおよび抗体CLドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項190に記載の宿主細胞。

【請求項196】

10個以下の単一アミノ酸変異を有するIgG1 Fcドメイン単量体を含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項189に記載の宿主細胞。

【請求項197】

10個以下の単一アミノ酸変異を有するIgG1 Fcドメイン単量体を含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項190に記載の宿主細胞。

【請求項199】

前記IgG1 Fcドメイン単量体が、CH3ドメイン中に10、8、6、または4つ以下の単一アミノ酸変異を有する配列番号42、43、45、および47のいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項196または197に記載の宿主細胞。

【請求項200】

請求項2～186のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、薬学的組成物。

【請求項201】

前記ポリペプチドの40%、30%、20%、10%、5%、2%未満が、Fcドメイン単量体上に少なくとも1つのフコース修飾を有する、請求項200に記載の薬学的組成物。

【請求項202】

10

20

30

40

50

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、または前記第 3 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 2 の F c ドメインを形成する、請求項 1 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 203】

前記単一 F c ドメイン構築体が抗体である、請求項 1 または 202 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 204】

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、または前記第 3 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 2 の F c ドメインを形成する、組成物。

【請求項 205】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドもしくは前記第 3 のポリペプチドに結合されるか、または前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドに結合される、請求項 204 に記載の組成物。

【請求項 206】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、および前記第 3 のポリペプチドに結合される、請求項 204 に記載の組成物。

【請求項 207】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

10

20

30

40

50

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、
c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項208】

前記生物活性が、Fc受容体媒介性エフェクター機能である、請求項207に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項209】

前記Fc受容体媒介性エフェクター機能が、ADCCおよびADCPおよび／またはCDC活性である、請求項208に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項210】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合するスペーサー

20

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が組み合わせられて第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が組み合わせられて第2のFcドメインを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

30

【請求項211】

前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドもしくは前記第3のポリペプチドに結合されるか、または前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドに結合される、請求項202、207、または210に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項212】

前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、および前記第3のポリペプチドに結合される、請求項202、207、または210に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

40

【請求項213】

前記CD38結合ドメインが、Fabである、請求項1および202～212のいずれか一項に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項214】

前記CD38結合ドメインが、前記第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である、請求項202～212のいずれか一項に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項215】

50

前記 C D 3 8 結合ドメインが、s c F v である、請求項 2 1 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 6】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、V_H ドメインおよび C_H 1 ドメインを含み、前記 V_H ドメインおよび C_H 1 ドメインが、前記第 1、第 2、または第 3 のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である、請求項 2 0 2 ～ 2 1 2 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 7】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、V_L ドメインをさらに含む、請求項 2 1 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 8】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、前記 V_L ドメインを含む第 4 のポリペプチドを含む、請求項 2 1 7 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 9】

前記 V_H ドメインが、表 1 に記載の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 配列のセットを含む、請求項 2 1 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 0】

前記 V_H ドメインが、表 2 に記載の抗体の配列を含む V_H ドメインの C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 を含む、請求項 2 1 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 1】

前記 V_H ドメインが、表 2 に記載の抗体の V_H 配列の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 を含む、前記 V_H 配列が、前記 C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 配列を除き、表 2 に記載の抗体の V_H 配列と少なくとも 9 5 % 同一である、請求項 2 1 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 2】

前記 V_H ドメインが、表 2 に記載の抗体の V_H 配列を含む、請求項 2 1 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 3】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、表 1 に記載される C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 の配列のセットを含む、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 1 5 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 4】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V_H 配列および V_L 配列のセットからの C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 の配列を含む、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 1 5 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 5】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V_H 配列の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 を含む V_H ドメインと、表 2 に記載される抗体の V_L 配列の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 を含む V_L ドメインと、を含み、前記 V_H ドメインの配列および前記 V_L ドメインの配列が、前記 C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の前記 V_H 配列および V_L 配列に対して少なくとも 9 5 % 同一である、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 1 5 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 6】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V_H 配列および V_L 配列のセットを含む、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 1 5 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 7】

10

20

30

40

50

I g G C_L 抗体定常ドメインおよび I g G C_H 1 抗体定常ドメインをさらに含み、前記 I g G C_H 1 抗体定常ドメインが、リンカーを介して前記第 1 のポリペプチドまたは前記第 2 のポリペプチドの N 末端に結合している、請求項 1 および 202～212 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 228】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 202～227 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 229】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 202～228 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 230】

前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドが、同一のアミノ酸配列を有する、請求項 202～228 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 231】

前記二量体形成選択性モジュールが、前記 F c ドメイン単量体の一方の前記 C_H 3 ドメイン内に改変された空洞と、前記 F c ドメイン単量体の他方の前記 C_H 3 ドメイン内に改変された突起と、を含み、前記改変された空洞および前記改変された突起が、F c ドメイン単量体の空洞内突起対 (protruberance-into-cavity pair) を形成するように配置されている、請求項 228 または 229 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 232】

前記改変された突起が、S354C、T366W、T366Y、T394W、T394F、および F405W からなる群から選択される少なくとも 1 つの修飾を含み、前記改変された空洞が、Y349C、T366S、L368A、Y407V、Y407T、Y407A、F405A、および T394S からなる群から選択される少なくとも 1 つの修飾を含む、請求項 231 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 233】

前記 F c ドメイン単量体の一方が Y407V および Y349C を含み、前記 F c ドメイン単量体の他方が T366W および S354C を含む、請求項 228 または 229 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 234】

前記二量体形成選択性モジュールが、前記ドメイン単量体の一方の前記 C_H 3 ドメイン内に負に荷電したアミノ酸と、前記 F c ドメイン単量体の他方の前記 C_H 3 ドメイン内に正に荷電したアミノ酸と、を含み、前記負に荷電したアミノ酸および前記正に荷電したアミノ酸が、F c ドメインの形成を促進するように配置されている、請求項 228 または 229 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 235】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D399K と、K409D または K409E のいずれかとを含む、請求項 234 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 236】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K392D および D399K を含む、請求項 234 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 237】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、E357K および K370E を含む、請求項 234 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

10

20

30

40

50

【請求項 2 3 8】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D 3 5 6 K および K 4 3 9 D を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 9】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K 3 9 2 E および D 3 9 9 K を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 0】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、E 3 5 7 K および K 3 7 0 D を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 1】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D 3 5 6 K および K 4 3 9 E を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 2】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、S 3 5 4 C および T 3 6 6 W を含む、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 3】

前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、S 3 5 4 C および T 3 6 6 W を含む、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 4】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、E 3 5 7 K または E 3 5 7 R を含む、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、K 3 7 0 D または K 3 7 0 E を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 5】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、K 3 7 0 D または K 3 7 0 E を含む、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、E 3 5 7 K または E 3 5 7 R を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 6】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、K 4 0 9 D または K 4 0 9 E を含む、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、D 3 9 9 K または D 3 9 9 R を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 7】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、D 3 9 9 K または D 3 9 9 R を含む、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、K 4 0 9 D または K 4 0 9 E を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 8】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体中の 1 つ以上のリンカーが、結合である、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 4 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 9】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体中の 1 つ以上のリンカーが、スペーサーである、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 4 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 0】

前記スペーサーが、配列

10

20

30

40

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSGS, SGGG, GSGS, GSGSGS,
 GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGS GGS, GGS GGS GGS, GGS GGS GGS GGS,
 GGS G, GGS G, GGS G GGS, GGS G GGS G GGS G GGS G GGS G GGS G GGS G GGS,
 SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH,
 GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR,
 GGS G GGS E G G G S E G G G S E G G G S E G G G S E G G G S G G G S, G G G S G G G S G G G S,
 S G G G S G G G S G G G S G G G S G G G, G G S G G G S G G G S G G G S G G S, G G G G, G G G G G G G,
 G G G G G G G G G G G G, または G G G G G G G G G G G G G G G G

を有するポリペプチドを含む、請求項 2 4 9 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項 2 5 1】

前記スパーサーが、グリシンスパーサーである、請求項 2 4 9 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 2】

前記スパーサーが、4～30、8～30、または12～30個のグリシン残基からなる、請求項 2 5 1 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 3】

前記スパーサーが、20個のグリシン残基からなる、請求項 2 5 2 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 4】

前記 CD 3 8 結合ドメインが、リンカーにより前記 F c ドメイン単量体に結合される、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 1 2 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

20

【請求項 2 5 5】

前記リンカーが、スパーサーである、請求項 2 5 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 6】

前記 F c ドメインのうちの少なくとも1つが、I 2 5 3 位に少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 5 5 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 7】

I 2 5 3 位の前記アミノ酸修飾が独立して、I 2 5 3 A、I 2 5 3 C、I 2 5 3 D、I 2 5 3 E、I 2 5 3 F、I 2 5 3 G、I 2 5 3 H、I 2 5 3 I、I 2 5 3 K、I 2 5 3 L、I 2 5 3 M、I 2 5 3 N、I 2 5 3 P、I 2 5 3 Q、I 2 5 3 R、I 2 5 3 S、I 2 5 3 T、I 2 5 3 V、I 2 5 3 W、および I 2 5 3 Y からなる群から選択される、請求項 2 5 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

30

【請求項 2 5 8】

I 2 5 3 位の各アミノ酸修飾が、I 2 5 3 A である、請求項 2 5 7 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 9】

前記 F c ドメインのうちの少なくとも1つが、R 2 9 2 位に少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 5 8 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

40

【請求項 2 6 0】

R 2 9 2 位の各アミノ酸修飾が独立して、R 2 9 2 D、R 2 9 2 E、R 2 9 2 L、R 2 9 2 P、R 2 9 2 Q、R 2 9 2 R、R 2 9 2 T、および R 2 9 2 Y からなる群から選択される、請求項 2 5 9 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 1】

R 2 9 2 位の各アミノ酸修飾が、R 2 9 2 P である、請求項 2 6 0 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 2】

50

前記 F c ドメイン単量体のうちの 1 つ以上が、I g G ヒンジドメイン、I g G C_H 2 抗体定常ドメイン、および I g G C_H 3 抗体定常ドメインを含む、請求項 1 および 2 0 2 ~ 2 6 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 3】

前記 F c ドメイン単量体が各々、I g G ヒンジドメイン、I g G C_H 2 抗体定常ドメイン、および I g G C_H 3 抗体定常ドメインを含む、請求項 2 6 2 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 4】

前記 I g G が、I g G 1、I g G 2 a、I g G 2 b、I g G 3、および I g G 4 からなる群から選択されるサブタイプのものである、請求項 2 6 2 または 2 6 3 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項 2 6 5】

前記第 1、第 2、第 3、および第 4 のポリペプチドの各々内の N 末端 A s p が、G l n に変異している、請求項 1 および 2 0 2 ~ 2 6 4 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 6】

前記第 1、第 2、第 3、および第 4 のポリペプチドのうちの 1 つ以上が、C 末端リシンを欠く、請求項 1 および 2 0 2 ~ 2 6 5 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 7】

20

前記第 1、第 2、第 3、および第 4 のポリペプチドが各々、C 末端リシンを欠く、請求項 2 6 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 8】

リンカーによって前記ポリペプチドのうちの 1 つ以上の N 末端または C 末端に結合されたアルブミン結合ペプチドをさらに含む、請求項 1 および 2 0 2 ~ 2 6 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 9】

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 5 0 % が、

30

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、または前記第 3 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

40

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 2 の F c ドメインを形成する、細胞培養培地。

【請求項 2 7 0】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 7 5 % が、前記第 1 の F c ドメイン、前記第 2 の F c ドメイン、および前記 C D 3 8 結合ドメインを含む、請求項 2 6 9 に記載の細胞培養培地。

【請求項 2 7 1】

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 5 0 % が構造的に同一であり、前記 F c 抗原結合ド

50

メイン構築体が、少なくとも 0.1 mg/L の濃度で前記培養培地中に存在する、細胞培養培地。

【請求項 272】

前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 75% が構造的に同一である、請求項 271 に記載の細胞培養培地。

【請求項 273】

前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも 10 mg/L の濃度で前記培養培地中に存在する、請求項 269～272 のいずれか一項に記載の細胞培養培地。

【請求項 274】

前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも 100 mg/L の濃度で前記培養培地中に存在する、請求項 269～273 のいずれか一項に記載の細胞培養培地。

10

【請求項 275】

Fc 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

(2) 第 3 の Fc ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

(3) 第 4 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

(4) 抗原結合ドメインと

20

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記 CD38 結合ドメインが、前記第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、または第 3 のポリペプチドに結合され、それにより Fc 抗原結合ドメイン構築体を形成し、細胞培養上清中の前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50% が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

30

【請求項 276】

Fc 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の Fc ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと

40

を含み、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体が組み合わせあって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体が組み合わせあって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメインおよび前記第 2 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、組成物。

【請求項 277】

50

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、請求項 2 7 6 に記載の組成物。

【請求項 2 7 8】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、E 3 5 7 K および K 3 7 0 D を含み、前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K 3 7 0 D および E 3 5 7 K を含む、請求項 2 7 7 に記載の組成物。

【請求項 2 7 9】

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと、

f) 前記第 3 のポリペプチドに結合された第 3 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメイン、前記第 2 の抗原結合ドメイン、および前記第 3 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、組成物。

【請求項 2 8 0】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、請求項 2 7 9 に記載の組成物。

【請求項 2 8 1】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、E 3 5 7 K および K 3 7 0 D を含み、前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K 3 7 0 D および E 3 5 7 K を含む、請求項 2 8 0 に記載の組成物。

【請求項 2 8 2】

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、
 i v) 第3のFcドメイン単量体、
 v) 第4のFcドメイン単量体、および
 v i) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

10

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、組成物。

【請求項283】

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が各々、前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第2のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

20

前記第4のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が各々、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項282に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項284】

Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

30

i i) 第2のFcドメイン単量体、および

i i i) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i v) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

v i) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

40

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、組成物。

【請求項285】

50

前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第3のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が各々、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項284に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項286】

Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第3のFcドメイン単量体、

iv) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー、および

v) 前記第2のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

20

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

vi) 第4のFcドメイン単量体、

vii) 第5のFcドメイン単量体、

viii) 第6のFcドメイン単量体、

ix) 前記第4のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体を結合する第3のリンカー、および

x) 前記第5のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体を結合する第4のリンカー

30

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体が組み合わさって第4のFcドメインを形成し、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体が組み合わさって第5のFcドメインを形成する、組成物。

40

【請求項287】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第7のFcドメイン単量体が各々、前記第1

50

の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 4 の F c ドメイン単量体および前記第 8 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 9 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 6 の F c ドメイン単量体および前記第 10 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 286 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項 288】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

20

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 および前記第 2 の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D 38 結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (A D C C) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (A D C P) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (C D C) アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

30

【請求項 289】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

40

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単

50

量体が、組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 および前記第 2 の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D 3 8 結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 290】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する
スパーサー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2
の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1
の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量
体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメインおよび前
記第 2 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 291】

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ド
メイン構築体のモル基準で少なくとも 50 % が、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合
させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2
の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1
の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量
体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメインおよび前
記第 2 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、細胞培養培地。

【請求項 292】

F c 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合
させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

(2) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

10

20

30

40

50

(3) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

(5) 前記第2のポリペプチドおよび／または第3のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合され、それによりFc抗原結合ドメイン構築体を形成し、前記第1および前記第2の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、細胞培養上清中の前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記Fc抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項293】

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が、前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、請求項288、289、290、291、または292に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項294】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、

f) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、前記第1、前記第2、および前記第3の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害(ADCC)アッセイ、抗体依存性細胞貪食(ADCP)アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害(CDC)アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項295】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合

させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと、

f) 前記第 3 のポリペプチドに結合された第 3 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1、前記第 2、および前記第 3 の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D 3 8 結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、F c 抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項 296】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する

20

スパーサー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと、

f) 前記第 3 のポリペプチドに結合された第 3 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメイン、前記第 2 の抗原結合ドメイン、および前記第 3 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

30

【請求項 297】

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 % が、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合

40

させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと、

f) 前記第 3 のポリペプチドに結合された第 3 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量

50

体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメイン、前記第2の抗原結合ドメイン、および前記第3の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、細胞培養培地。

【請求項298】

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

10

を含む、第1のポリペプチドと、

(2) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

(3) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

(5) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、

(6) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合され、それによりFc抗原結合ドメイン構築体を形成し、前記第1および前記第2の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、細胞培養上清中の前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、

20

b) 前記細胞培養上清から前記Fc抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項299】

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が、前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、請求項294、295、296、297、または298に記載の組成物。

30

【請求項300】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

40

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

50

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が、組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害(ADCC)アッセイ、抗体依存性細胞貪食(ADCP)アッセイ、および/または補体依存性細胞傷害(CDC)アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項301】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する

第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第

2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含み、

30

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が、組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項302】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する

第1のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第

2のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

50

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
 d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、
 e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項303】

Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、
 i) 第1のFcドメイン単量体、
 ii) 第2のFcドメイン単量体、および
 iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

20

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含み、

30

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、細胞培養培地。

【請求項304】

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、
 i) 第1のFcドメイン単量体、
 ii) 第2のFcドメイン単量体、および
 iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

40

(2) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

(3) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

50

(4) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

(5) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを発現する宿主細胞を培養することであって、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成し、細胞培養上清中の前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が構造的に同一である、培養することと、

10

b) 前記細胞培養上清から前記Fc抗原結合ドメイン構築体を精製することを含む、方法。

【請求項305】

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が各々、前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第2のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第4のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が各々、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項300、301、302、303、または304に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

20

【請求項306】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

30

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

40

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が、組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害(ADCC)アッセイ、抗体依存性細胞貪食(ADCP)アッセイ、および/または補体依存性細胞傷害(CDC)アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

50

【請求項 307】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

iv) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

v) 第 4 の Fc ドメイン単量体、および

vi) 前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の Fc ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 6 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 3 の Fc ドメインを形成し、前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体が、単一 Fc ドメインと前記 CD38 結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 308】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合する第 1 のスペーサー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

iv) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

v) 第 4 の Fc ドメイン単量体、および

vi) 前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体を結合する第 2 のスペーサー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の Fc ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 6 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 3 の Fc ドメインを形成する、Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 309】

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 % が、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i v) 第 3 の F c ドメイン単量体、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 3 の F c ドメインを形成する、細胞培養培地。

【請求項 310】

F c 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

(2) 第 2 のポリペプチドであって、

i v) 第 3 の F c ドメイン単量体、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

(3) 第 5 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

(4) 第 6 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

(5) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を発現する宿主細胞を培養することであって、

前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 3 の F c ドメインを形成し、細胞培養上清中の前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 % が構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することと

を含む、方法。

【請求項 3 1 1】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 6 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 3 0 6、3 0 7、3 0 8、3 0 9、または 3 1 0 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

10

【請求項 3 1 2】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー、および

20

v) 前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

v i i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

v i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

v i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i x) 前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体を結合する第 3 のリンカー、および

x) 前記第 5 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体を結合する第 4 のリンカー

30

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体を含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 1 0 の F c ドメイン単量体を含む第 6 のポリペプチドと、

g) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、前記第 4 のポリペプチド、前記第 5 のポリペプチド、または前記第 6 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

40

前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 3 の F c ドメインを形成し、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 4 の F c ドメインを形成し、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 1 0 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 5 の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D 3 8 結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (A D C C) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (A D C P) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (C D C) アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する

50

、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項313】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第3のFcドメイン単量体、

iv) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー、および

v) 前記第2のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

vi) 第4のFcドメイン単量体、

vii) 第5のFcドメイン単量体、

viii) 第6のFcドメイン単量体、

ix) 前記第4のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体を結合する第3のリンカー、および

x) 前記第5のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体を結合する第4のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第3のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第4のFcドメインを形成し、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第5のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項314】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第3のFcドメイン単量体、

iv) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のスペーサー、および

v) 前記第2のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

10

20

30

40

50

- v i) 第4のFcドメイン単量体、
- v i i) 第5のFcドメイン単量体、
- v i i i) 第6のFcドメイン単量体、

i x) 前記第4のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体を結合する第3のスペーサー、および

x) 前記第5のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体を結合する第4のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体が組み合わさって第4のFcドメインを形成し、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体が組み合わさって第5のFcドメインを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項315】

Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

i i) 第2のFcドメイン単量体、

i i i) 第3のFcドメイン単量体、

i v) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のスペーサー、および

v) 前記第2のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

v i) 第4のFcドメイン単量体、

v i i) 第5のFcドメイン単量体、

v i i i) 第6のFcドメイン単量体、

i x) 前記第4のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体を結合する第3のスペーサー、および

x) 前記第5のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体を結合する第4のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合

された抗原結合ドメインと
を含み、

前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 3 の F c ドメインを形成し、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 4 の F c ドメインを形成し、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 5 の F c ドメインを形成する、細胞培養培地。

【請求項 316】

F c 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のスペーサー、および

v) 前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体を結合する第 2 のスペーサー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

(2) 第 2 のポリペプチドであって、

v i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

v i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

v i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i x) 前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体を結合する第 3 のスペーサー、および

x) 前記第 5 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体を結合する第 4 のスペーサー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

(3) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

(4) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

(5) 第 9 の F c ドメイン単量体を含む第 5 のポリペプチドと、

(6) 第 10 の F c ドメイン単量体を含む第 6 のポリペプチドと、

(7) 第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、第 3 のポリペプチド、第 4 のポリペプチド、第 5 のポリペプチド、または第 6 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 3 の F c ドメインを形成し、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 4 の F c ドメインを形成し、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 5 の F c ドメインを形成し、細胞培養上清中の前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 % が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項 317】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相

補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 7 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 4 の F c ドメイン単量体および前記第 8 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 9 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 6 の F c ドメイン単量体および前記第 10 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 3 1 2、3 1 3、3 1 4、3 1 5、または 3 1 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 3 1 8】

1 つ以上の前記 F c ドメイン単量体が、先行する請求項のいずれか一項に記載の抗原結合構築物またはポリペプチド。

【請求項 3 1 9】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第 1 および第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第 3 および第 4 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 6 のポリペプチドと

を含み、

第 1 および第 3 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 5 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 4 および第 6 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 3 2 0】

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 1 9 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 2 1】

前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 1 9 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 2 2】

前記第 5 のポリペプチドおよび前記第 6 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3

10

20

30

40

50

19に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項323】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項319に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項324】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項319～323のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

10

【請求項325】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項319～323のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項326】

前記Fcドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項319～323のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項327】

20

前記単一アミノ酸置換が、前記CH3ドメイン内のみにある、請求項324～326のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン単量体。

【請求項328】

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が、前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項319～323のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項329】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第4のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項319～323のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

30

【請求項330】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、請求項328に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項331】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表3中の置換から選択される、請求項329に記載のFc抗原ドメイン構築体。

40

【請求項332】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、および

iv) 前記第1および第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

50

- i) 第3のFcドメイン単量体、
 - ii) 第4のFcドメイン単量体、
 - iii) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および
 - iv) 前記第3および第4のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第2のポリペプチドと、
 - c) 第5のFcドメイン単量体と第1のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、
 - d) 第6のFcドメイン単量体と第2のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第4のポリペプチドと
- を含み、

10

第1および第3のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第2および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第4および第6のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項333】

- Fc抗原結合ドメイン構築体であって、
- a) 第1のポリペプチドであって、
 - i) 第1のFcドメイン単量体、
 - ii) 第2のFcドメイン単量体、
 - iii) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、および
 - iv) 前記第1および第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチドと、
 - b) 第2のポリペプチドであって、
 - i) 第3のFcドメイン単量体、
 - ii) 第4のFcドメイン単量体、
 - iii) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および
 - iv) 前記第3および第4のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第2のポリペプチドと、
 - c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
 - d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、
 - e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、
 - f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと
- を含み、

20

30

前記第1および第5のFcドメイン単量体が、一緒になって第1のFcドメインを形成し、前記第3および第6のFcドメイン単量体が、一緒になって第2のFcドメインを形成し、前記第2および第4のFc単量体が、一緒になって第3のFcドメインを形成し、前記第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインが、一緒になって第1のFabを形成し、前記第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインが、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

40

【請求項334】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、請求項333に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項335】

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、請求項333に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項336】

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項333に記載のFc抗原ドメイン構築体。

50

【請求項 3 3 7】

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 5 のポリペプチドおよび前記第 6 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 3 3 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 3 8】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 3 9】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、ヒト I g G 1 のアミノ酸配列と比較して、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 0】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10、8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 1】

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H 3 ドメイン内のみにある、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン単量体。

【請求項 3 4 2】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 3】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 6 の F c ドメイン単量体が、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 4】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 3 4 2 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 5】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 3 4 3 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 6】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー

10

20

30

40

50

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 6 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

10

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体を含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の F c ドメイン単量体を含む第 6 のポリペプチドと、

g) 第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 7 のポリペプチドと、

h) 第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 8 のポリペプチドと

を含み、

第 1 および第 7 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 4 および第 8 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 5 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 3 および第 9 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 4 の F c ドメインを形成し、第 6 および第 10 の F c 単量体は、一緒になって第 5 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

20

【請求項 3 4 7】

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 4 6 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 8】

前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 4 6 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

30

【請求項 3 4 9】

前記第 5 のポリペプチドおよび前記第 6 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 4 6 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 0】

前記第 7 のポリペプチドおよび前記第 8 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 4 6 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 1】

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 5 のポリペプチドおよび前記第 6 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 7 のポリペプチドおよび前記第 8 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 4 6 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

40

【請求項 3 5 2】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 4 6 ～ 3 5 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 3】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、ヒト I g G 1 のアミノ酸配列と比較して、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、

50

請求項 3 4 6 ～ 3 5 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 4】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 1 0、8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 3 4 6 ～ 3 5 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 5】

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H 3 ドメイン内のみにある、請求項 3 4 6 ～ 3 5 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン単量体。

【請求項 3 5 6】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 4 6 ～ 3 5 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 7】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 7 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 4 の F c ドメイン単量体および前記第 8 の F c ドメイン単量体が、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 9 の F c ドメイン単量体が、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 6 の F c ドメイン単量体および前記第 1 0 の F c ドメイン単量体が、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 1 0 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 4 6 ～ 3 5 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 8】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 3 5 7 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 9】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 3 5 8 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 6 0】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

10

20

30

40

50

v) 第4のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第5のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体と第1のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体と第2のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第6のポリペプチドと

10

を含み、

第1および第7のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第4および第8のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2および第5のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第3および第9のFcドメイン単量体は、一緒になって第4のFcドメインを形成し、第6および第10のFc単量体は、一緒になって第5のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

20

【請求項361】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第3のFcドメイン単量体、

iv) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、

v) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

30

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第4のFcドメイン単量体、

ii) 第5のFcドメイン単量体、

iii) 第6のFcドメイン単量体、

iv) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、

v) 第4のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第5のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

40

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第7のポリペプチドと、

h) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第8のポリペプチドと

を含み、

第1および第4のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第2および第7のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第5および第8のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第3および第9のFcドメイン単量体は、一緒になって第4のFcドメインを形成し、第6および第1

50

0のFc単量体は、一緒になって第5のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項362】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、請求項361に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項363】

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、請求項361に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項364】

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項361に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項365】

前記第7のポリペプチドおよび前記第8のポリペプチドの配列が同一である、請求項361に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項366】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一であり、前記第7のポリペプチドおよび前記第8のポリペプチドの配列が同一である、請求項361に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項367】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項361～366のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項368】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項361～366のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項369】

前記Fcドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項361～366のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項370】

前記単一アミノ酸置換が、前記CH3ドメイン内のみにある、請求項361～366のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン単量体。

【請求項371】

前記第1のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が、前記第1のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項361～366のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項372】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第7のFcドメイン単量体が、前記第2のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第5のFcドメイン単量体および前記第8のFcドメイン単量体が、前記第5のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第3のFcドメイン単量

体および前記第 9 の F c ドメイン単量体が、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 6 の F c ドメイン単量体および前記第 10 の F c ドメイン単量体が、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 361～366 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 373】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 371 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

10

【請求項 374】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 372 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 375】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

ii) 第 2 の F c ドメイン単量体、

iii) 第 3 の F c ドメイン単量体、

iv) 第 1 の C D 38 重鎖結合ドメイン、

20

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

ii) 第 5 の F c ドメイン単量体、

iii) 第 6 の F c ドメイン単量体、

iv) 第 2 の C D 38 重鎖結合ドメイン、

30

v) 第 4 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 6 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体と第 1 の C D 38 軽鎖結合ドメインとを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の F c ドメイン単量体と第 2 の C D 38 軽鎖結合ドメインとを含む第 6 のポリペプチドと

を含み、

40

第 1 および第 4 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 7 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 5 および第 8 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 3 および第 9 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 4 の F c ドメインを形成し、第 6 および第 10 の F c 単量体は、一緒になって第 5 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 38 重鎖結合ドメインと第 1 の C D 38 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 38 重鎖結合ドメインと第 2 の C D 38 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 376】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

50

- a) 第1のポリペプチドであって、
 - i) 第1のFcドメイン単量体、
 - ii) 第2のFcドメイン単量体、
 - iii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、
 - b) 第2のポリペプチドであって、
 - i) 第3のFcドメイン単量体、
 - ii) 第4のFcドメイン単量体、
 - iii) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、
 - c) 第5のFcドメイン単量体と第1のCD38重鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、
 - d) 第6のFcドメイン単量体第2のCD38重鎖結合ドメインを含む第4のポリペプチドと、
 - e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、
 - f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと
- を含み、

第1および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第3および第6のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2および第4のFcドメイン単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項377】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、請求項202に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項378】

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、請求項202に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項379】

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項202に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項380】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項202に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項381】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項376～380のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項382】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項376～380のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項383】

前記Fcドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項376～380のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 384】

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H 3 ドメイン内のみにある、請求項 376～380 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン単量体。

【請求項 385】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 376～380 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 386】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 6 の F c ドメイン単量体が、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 376～380 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 387】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 385 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 388】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 386 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 389】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、および

i v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、および

i v) 第 3 の F c ドメイン単量体と第 4 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 3 の C D 3 8 重鎖結合ドメインとを含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体と第 4 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 6 のポリペプチドと、

g) 第 3 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 7 のポリペプチドと、

h) 第 4 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 8 のポリペプチドと

を含み、

第 1 および第 5 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 3 および第 6 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 4 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインと第 3 の C D 3 8 重鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインと第 4 の C D 3 8 重鎖結合ドメインは、一緒に

10

20

30

40

50

なって第2のF a bを形成し、第3のC D 3 8軽鎖結合ドメインと第1のC D 3 8重鎖結合ドメインは、一緒になって第3のF a bを形成し、第4のC D 3 8軽鎖結合ドメインと第2のC D 3 8重鎖結合ドメインは、一緒になって第2のF a bを形成する、F c抗原結合ドメイン構築体。

【請求項390】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、請求項389に記載のF c抗原ドメイン構築体。

【請求項391】

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、請求項389に記載のF c抗原ドメイン構築体。

10

【請求項392】

前記第5のポリペプチド、前記第6のポリペプチド、前記第7のポリペプチド、および前記第8のポリペプチドの配列が同一である、請求項389に記載のF c抗原ドメイン構築体。

【請求項393】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチド、前記第6のポリペプチド、前記第7のポリペプチド、および前記第8のポリペプチドの配列が同一である、請求項389に記載のF c抗原ドメイン構築体。

【請求項394】

前記F cドメイン単量体の各々の前記C H 3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のF c抗原ドメイン構築体。

20

【請求項395】

前記F cドメイン単量体の各々の前記C H 3ドメインが、ヒトI g G 1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のF c抗原ドメイン構築体。

【請求項396】

前記F cドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のF c抗原ドメイン構築体。

30

【請求項397】

前記単一アミノ酸置換が、前記C H 3ドメイン内のみにある、請求項389～393のいずれか一項に記載のF c抗原ドメイン単量体。

【請求項398】

前記第2のF cドメイン単量体および前記第4のF cドメイン単量体が、前記第2のF cドメイン単量体と前記第4のF cドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のF c抗原ドメイン構築体。

40

【請求項399】

前記第1および第5のF cドメイン単量体が、前記第1および第5のF cドメイン単量体間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、前記第3および第6のF cドメイン単量体が、前記第3および第6のF cドメイン単量体間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のF c抗原ドメイン構築体。

【請求項400】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、請求項398に記載のF c抗原ドメイン構築体。

50

0

【請求項 4 1 1】

前記癌が、血液学的悪性腫瘍および／または固形腫瘍からなる適応症の群から選択される、請求項 4 1 0 に記載の方法。

【請求項 4 1 2】

前記癌が、胃癌、乳癌、結腸癌、肺癌、マンツル細胞リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、NK細胞白血病、NK／T細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、形質細胞白血病、および多発性骨髄腫などから選択される、請求項 4 1 0 に記載の方法。

【請求項 4 1 3】

前記癌が、ダラツムマブまたは任意の他の治療用抗CD38モノクローナル抗体治療に耐性である、請求項 4 1 1 または 4 1 2 に記載の方法。

10

【請求項 4 1 4】

前記自己免疫疾患が、以下の自己抗体介在性疾患：重症筋無力症（MG）、MuSK-MG、心筋炎、ランバート・イートン、筋無力症候群、神経ミオトニー、視神経脊髄炎、ナルコレプシー、急性運動性軸索型ニューロパチー、ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群、急性感覚失調性ニューロパチー、傍腫瘍性スティッフパーソン症候群、慢性ニューロパチー、末梢ニューロパチー、急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、膜性腎症、糸球体腎炎、肺胞蛋白症、CIPD、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性血小板減少性紫斑病、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、水疱性類天疱瘡、妊娠性類天疱瘡、後天性表皮水疱症、新生児エリテマトーデス、疱疹状皮膚炎、グレーブス病、アディソン病、卵巣機能不全症、自己免疫性精巣炎、シェーグレン症候群、自己免疫性胃炎、関節リウマチ、SLE、ドライアイ疾患、血管炎（急性）、心臓炎、抗体関連型拒絶反応からなる群から選択される、請求項 4 1 1 に記載の方法。

20

【請求項 4 1 5】

前記悪性腫瘍が、形質芽球および形質細胞が病因を駆動する以下の疾患：ALアミロイドーシス、キャッスルマン病、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症（MGUS）、意義不明の二クローン性ガンマグロブリン血症、骨硬化性骨髄腫（POEMS症候群）、重鎖疾患、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫からなる群から選択される、請求項 4 1 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

30

【0001】

概要

CD38は、正常および悪性の形質芽球および形質細胞において高密度で、特定のリンパ球および骨髄性細胞において低レベルで発現される、II型膜貫通糖タンパク質である。ダラザレックス（ダラツムマブ）は、再発した難治性の多発性骨髄腫、および新たに診断された多発性骨髄腫に対して承認された、抗CD38細胞溶解性モノクローナル抗体である。

【発明の概要】

【0002】

開示の概要

40

本開示は、CD38結合ドメインを少なくとも2つのFcドメインと組み合わせて、固有の生物活性を有する新たな治療剤を生み出すための組成物および方法の特徴とする。

【0003】

いくつかの事例では、本開示は、既知のCD38標的化単一Fcドメインを含有する治療剤、例えば、既知の治療用CD38抗体などのCD38結合ドメインを、少なくとも2つのFcドメインと組み合わせて、既知のCD38抗体より大きい生物活性を有する新規の治療剤を生み出すことを企図する。かかる構築体を生み出すために、本開示は、少なくとも2つ、例えば、複数のFcドメインを有する構築体を組み立て、かつそれらのホモ二量体形成およびヘテロ二量体形成を制御して、限定された数のポリペプチド由来の別個のサイズの分子を組み立てるための様々な方法を提供する。これらの構築体の特性により、

50

実質的に均質な薬学的組成物の効率的な生成が可能となる。薬学的組成物の安全性、有効性、均一性、および信頼性を確実にするためには、薬学的組成物においてそのような均質性があることが望ましい。

【0004】

第1の態様では、本開示は、強化されたエフェクター機能を含むFc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、Fc抗原結合ドメイン構築体は、CD38結合ドメインと、リンカーにより第2のFcドメインに結合された第1のFcドメインとを含み、Fc抗原結合ドメイン構築体は、単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害(ADCC)アッセイ、抗体依存性細胞貪食(ADCP)アッセイ、および/または補体依存性細胞傷害(CDC)アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する。

10

【0005】

第2の態様では、本開示は、CD38結合ドメインと、リンカーにより第2のFcドメインに結合された第1のFcドメインとを含むFc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な群を含む組成物を特徴とする。

【0006】

第3の態様では、本開示は、CD38結合ドメインと、リンカーにより第2のFcドメインに結合された第1のFcドメインとを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、Fc抗原結合ドメイン構築体は、単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む。

20

【0007】

第4の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチド、c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、ならびにd) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な群を含む組成物を特徴とし、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体は、組み合わさって第2のFcドメインを形成する。

30

【0008】

第4の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドもしくは第3のポリペプチドに結合されるか、または第2のポリペプチドおよび第3のポリペプチドに結合されるか、あるいはCD38結合ドメインは、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、および第3のポリペプチドに結合される。

【0009】

第5の態様では、本開示は、強化されたエフェクター機能を含むFc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、Fc抗原結合ドメイン構築体は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチド、c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、ならびにd) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含み、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体は、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、Fc抗原結合ドメイン構築体は、単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害(ADCC)アッセイ、抗体依存性細胞貪食(ADCP)アッセイ、および/または補体依存性細胞傷害(CDC)アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する。

40

【0010】

50

第5の態様のいくつかの実施形態では、単一Fcドメイン構築体は、抗体である。

【0011】

第6の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチド、c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、ならびにd) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメイン、を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、Fc抗原結合ドメイン構築体は、単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む。

10

【0012】

第6の態様のいくつかの実施形態では、生物活性は、ADCC、ADCP、および／またはCDC活性（例えば、ADCCおよびADCP活性、ADCCおよびCDC活性、ADCPおよびCDC活性、またはADCC、ADCP、およびCDC活性）等のFc受容体媒介性エフェクター機能である。

【0013】

第7の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させるスパーサーを含む、第1のポリペプチド、b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチド、c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、ならびにd) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成する。

20

【0014】

本開示の第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドもしくは第3のポリペプチドに結合されるか、または第2のポリペプチドおよび第3のポリペプチドに結合されるか、あるいはCD38結合ドメインは、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、および第3のポリペプチドに結合される。

30

【0015】

本開示の第1、第2、第3、および第4の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、FabまたはFabのV_Hである。

【0016】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、結合ドメインは、第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部であり、かつ、いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、scFvである。

40

【0017】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、V_HドメインおよびC_H1ドメインを含み、V_HドメインおよびC_H1ドメインは、第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である。いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、V_Lドメインをさらに含み、いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、V_Lドメインを含む第4のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、V_Hドメインは、表1に記載のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列のセットを含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体の配列を含むVHドメインのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体のV_H配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR

50

ーH 3を含み、 V_H 配列は、CDR-H 1、CDR-H 2、およびCDR-H 3を除き、表2に記載の抗体の V_H 配列と少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、または少なくとも99.5%同一であるか、または V_H ドメインは、表2に記載の抗体の V_H 配列を含む。

【0018】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、表1に記載されるCDR-H 1、CDR-H 2、CDR-H 3、CDR-L 1、CDR-L 2、およびCDR-L 3の配列のセットを含み、CD38結合ドメインは、表2に記載される抗体の V_H 配列および V_L 配列のセットからのCDR-H 1、CDR-H 2、CDR-H 3、CDR-L 1、CDR-L 2、およびCDR-L 3の配列を含み、CD38結合ドメインは、表2に記載される抗体の V_H 配列のCDR-H 1、CDR-H 2、およびCDR-H 3を含む V_H ドメイン、ならびに表2に記載される抗体の V_L 配列のCDR-L 1、CDR-L 2、およびCDR-L 3を含む V_L ドメインを含み、 V_H ドメイン配列および V_L ドメイン配列は、CDR-H 1、CDR-H 2、CDR-H 3、CDR-L 1、CDR-L 2、およびCDR-L 3の配列を除き、表2に記載される抗体の V_H および V_L の配列に対して少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、もしくは少なくとも99.5%同一であるか、またはCD38結合ドメインは、表2に記載される抗体の V_H および V_L の配列のセットを含む。

【0019】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、IgG C_L抗体定常ドメインおよびIgG C_H1抗体定常ドメインをさらに含み、IgG C_H1抗体定常ドメインは、リンカーによって第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドのN末端に結合している。

【0020】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

【0021】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

【0022】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、Fcドメイン単量体の一方のC_H3ドメイン内に改変された空洞と、Fcドメイン単量体の他方のC_H3ドメイン内に改変された突起とを含み、改変された空洞および改変された突起は、Fcドメイン単量体の空洞内突起対 (protruberance-into-cavity pair) を形成するように配置されている。いくつかの実施形態では、改変された突起は、S354C、T366W、T366Y、T394W、T394F、およびF405Wから選択される少なくとも1つの修飾を含み、改変された空洞は、Y349C、T366S、L368A、Y407V、Y407T、Y407A、F405A、およびT394Sから選択される少なくとも1つの修飾を含む。いくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体の一方が、Y407VおよびY349Cを含み、Fcドメイン単量体の他方が、T366WおよびS354Cを含む。

【0023】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、ドメイン単量体の一方のC_H3ドメイン内に負に荷電したアミノ酸と、Fcドメイン単量体の他方のC_H3ドメイン内に正に荷電したアミノ酸とを含み、負に荷電したアミノ酸および正に荷電したアミノ酸は、Fcドメインの形成を促進するよう

に配置されている。いくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D399Kと、K409DまたはK409Eのいずれかとを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、K392DおよびD399Kを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、E357KおよびK370Eを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D356KおよびK439Dを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、K392EおよびD399Kを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、E357KおよびK370Dを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D356KおよびK439Eを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、S354CおよびT366Wを含み、第3と第4のポリペプチドは各々、Y349C、T366S、L368A、およびY407Vを含み、第3および第4のポリペプチドは各々、S354CおよびT366Wを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、Y349C、T366S、L368A、およびY407Vを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、E357KまたはE357Rを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、K370DまたはK370Eを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体の各々は、K370DまたはK370Eを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、E357KまたはE357Rを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、K409DまたはK409Eを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、D399KまたはD399Rを含むか、または第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、D399KまたはD399Rを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、K409DまたはK409Eを含む。

【0024】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、第2のポリペプチドおよび第3のポリペプチドは、同一のアミノ酸配列を有する。

【0025】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のリンカーは、結合である。

【0026】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のリンカーは、スペーサーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG,

SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS,

GGSGSGSGS, GGSGSGSGSGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG,

GGSGGGSGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGG, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT,

RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,

AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGG,

GGGSGGGSGGGG, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGGG,

GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG, または GGGGGGGGGGGGGGGGGG

を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、スペーサーは、グリシンスペーサー、例えば、4～30、8～30、または12～30個のグリシン残基からなるスペーサー、例えば、20個のグリシン残基からなるスペーサーである。

【0027】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、リンカーによりFcドメイン単量体に結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、スペーサーである。

【0028】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、Fcドメインのうちの少なくとも1つは、EUのI253位に少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、I253位の各アミノ酸修飾は独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yから選択される。いくつかの実施形態では、I253位の各アミノ酸修飾は、I253Aである。

【0029】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、Fcドメインのうちの少なくとも1つは、EUのR292位に少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、R292位の各アミノ酸修飾は独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yから選択される。いくつかの実施形態では、R292位の各アミノ酸修飾は、R292Pである。

【0030】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体のうちの1つ以上が、IgGヒンジドメイン、IgG C_H2抗体定常ドメイン、およびIgG C_H3抗体定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体は各々、IgGヒンジドメイン、IgG C_H2抗体定常ドメイン、およびIgG C_H3抗体定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、IgGは、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、およびIgG4からなる群から選択されるサブタイプのものである。

【0031】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、第4、第5、第6、および第7のポリペプチドの各々内のN末端Aspが、Glnに変異している。

【0032】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、第4、第5、第6、および第7のポリペプチドのうちの1つ以上が、C末端リシンを欠く。いくつかの実施形態では、第4、第5、第6、および第7のポリペプチドは各々、C末端リシンを欠く。

【0033】

本開示の第4、第5、第6、および第7の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、リンカーによってポリペプチドのうちの1つ以上のN末端またはC末端に結合されたアルブミン結合ペプチドをさらに含む。

【0034】

第8の態様では、本開示は、Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が構造的に同一であり、Fc抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも0.1mg/L、10mg/L、25mg/L、50mg/L、75mg/L、または100mg/Lの濃度で培養培地中に存在する、細胞培養培地を特徴とする。

【0035】

本開示の第8の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも75%、少なくとも85%、または少なくとも95%が、構造的に同一である。

【0036】

第9の態様では、本開示は、Fc抗原結合ドメイン構築体の群を含む細胞培養培地を特徴とし、Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させるリンカーを含む、第1のポリペ

10

20

30

40

50

チド、b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチド、c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、ならびにd) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含み、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第2のFcドメインを形成する。

【0037】

本開示の第9の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも75%、少なくとも85%、または少なくとも95%は、第1のFcドメイン、第2のFcドメイン、およびCD38結合ドメインを含む。

10

【0038】

第10の態様では、本開示は、Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法を特徴とし、方法は、a) (1) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチド、(2) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチド、(3) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、ならびに(4) CD38結合ドメインを発現する、宿主細胞を培養することであって、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、CD38結合ドメインは、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合され、それによりFc抗原結合ドメイン構築体を形成し、細胞培養上清中のFc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、b) 細胞培養上清からFc抗原結合ドメイン構築体を精製することと、を含む。

20

【0039】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドもしくは第3のポリペプチドに結合されるか、または第2のポリペプチドおよび第3のポリペプチドに結合されるか、あるいはCD38結合ドメインは、第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、および第3のポリペプチドに結合される。

30

【0040】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、FabまたはV_Hである。

【0041】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部であり、かつ、いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、scFvである。

【0042】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、V_HドメインおよびC_H1ドメインを含み、V_HドメインおよびC_H1ドメインは、第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である。いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、V_Lドメインをさらに含み、いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、V_Lドメインを含む第4のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、V_Hドメインは、表1に記載のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列のセットを含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体の配列を含むV_HドメインのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体のV_H配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_H配列は、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を除き、表2に記載の抗体のV_H配列と少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、または少なくとも99.5%同一であるか、またはV_Hドメインは、表2に記載の抗体

40

50

の V_H 配列を含む。

【0043】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、表1に記載されるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列のセットを含み、CD38結合ドメインは、表2に記載される抗体の V_H 配列および V_L 配列のセットからのCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を含み、CD38結合ドメインは、表2に記載される抗体の V_H 配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む V_H ドメイン、ならびに表2に記載される抗体の V_L 配列のCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む V_L ドメインを含み、 V_H ドメイン配列および V_L ドメイン配列は、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を除き、表2に記載される抗体の V_H および V_L の配列に対して少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、もしくは少なくとも99.5%同一であるか、またはCD38結合ドメインは、表2に記載される抗体の V_H および V_L の配列のセットを含む。

10

【0044】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、IgG_{C_L}抗体定常ドメインおよびIgG_{C_H1}抗体定常ドメインをさらに含み、IgG_{C_H1}抗体定常ドメインは、リンカーによって第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドのN末端に結合している。

20

【0045】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

【0046】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

【0047】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、Fcドメイン単量体の一方の C_H3 ドメイン内に改変された空洞と、Fcドメイン単量体の他方の C_H3 ドメイン内に改変された突起とを含み、改変された空洞および改変された突起は、Fcドメイン単量体の空洞内突起対を形成するように配置されている。いくつかの実施形態では、改変された突起は、S354C、T366W、T366Y、T394W、T394F、およびF405Wから選択される少なくとも1つの修飾を含み、改変された空洞は、Y349C、T366S、L368A、Y407V、Y407T、Y407A、F405A、およびT394Sから選択される少なくとも1つの修飾を含む。いくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体の一方が、Y407VおよびY349Cを含み、Fcドメイン単量体の他方が、T366WおよびS354Cを含む。

30

【0048】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、ドメイン単量体の一方の C_H3 ドメイン内に負に荷電したアミノ酸と、Fcドメイン単量体の他方の C_H3 ドメイン内に正に荷電したアミノ酸とを含み、負に荷電したアミノ酸および正に荷電したアミノ酸は、Fcドメインの形成を促進するように配置されている。いくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D399Kと、K409DまたはK409Eのいずれかとを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、K392DおよびD399Kを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、E357KおよびK370Eを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D356KおよびK439Dを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFc

40

50

ドメイン単量体は各々、K 3 9 2 EおよびD 3 9 9 Kを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、E 3 5 7 KおよびK 3 7 0 Dを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D 3 5 6 KおよびK 4 3 9 Eを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、S 3 5 4 CおよびT 3 6 6 Wを含み、第3と第4のポリペプチドは各々、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、およびY 4 0 7 Vを含み、第3および第4のポリペプチドは各々、S 3 5 4 CおよびT 3 6 6 Wを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、およびY 4 0 7 Vを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、E 3 5 7 KまたはE 3 5 7 Rを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、K 3 7 0 DまたはK 3 7 0 Eを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体の各々は、K 3 7 0 DまたはK 3 7 0 Eを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、E 3 5 7 KまたはE 3 5 7 Rを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、K 4 0 9 DまたはK 4 0 9 Eを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、D 3 9 9 KまたはD 3 9 9 Rを含むか、または第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、D 3 9 9 KまたはD 3 9 9 Rを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、K 4 0 9 DまたはK 4 0 9 Eを含む。

【0049】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、第2のポリペプチドおよび第3のポリペプチドは、同一のアミノ酸配列を有する。

【0050】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のリンカーは、結合である。

【0051】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のリンカーは、スペーサーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSGG, SGGG, GSGS,
GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,
GSGSGSGSGSGS, GSGG, GSGG, GSGGGSGG,
GSGGGSGSGSGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT,
RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,
AAANSSIDLISVPVDSR, GSGSGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS,
GGGSGGGSGGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG,
GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG, または GGGGGGGGGGGGGGGGGGG

を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、スペーサーは、グリシンスペーサー、例えば、4～30、8～30、または12～30個のグリシン残基からなるスペーサー、例えば、20個のグリシン残基からなるスペーサーである。

【0052】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、リンカーによりFcドメイン単量体に結合される。いくつかの実施形態では、リンカーは、スペーサーである。

【0053】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、Fcドメインのうちの少なくとも1つは、I 2 5 3位に少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、I 2 5 3位の各アミノ酸修飾は独立して、I 2 5 3 A、I 2 5 3 C、I 2 5 3 D、I 2 5 3 E、I 2 5 3 F、I 2 5 3 G、I 2 5 3 H、I 2 5 3 I、I 2 5 3 K、I 2 5 3 L、I 2 5 3 M、I 2 5 3 N、I 2 5 3 P、I 2 5 3 Q、I 2 5 3 R、I 2 5 3 S、I 2 5 3 T、I 2 5 3 V、I 2 5 3 W、およびI 2 5 3 Yから選択される。いくつかの実施

形態では、I 2 5 3 位の各アミノ酸修飾は、I 2 5 3 Aである。

【0054】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、Fcドメインのうちの少なくとも1つは、R 2 9 2 位に少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、R 2 9 2 位の各アミノ酸修飾は独立して、R 2 9 2 D、R 2 9 2 E、R 2 9 2 L、R 2 9 2 P、R 2 9 2 Q、R 2 9 2 R、R 2 9 2 T、およびR 2 9 2 Yから選択される。いくつかの実施形態では、R 2 9 2 位の各アミノ酸修飾は、R 2 9 2 Pである。

【0055】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体のうちの1つ以上が、IgGヒンジドメイン、IgG C_H2抗体定常ドメイン、およびIgG C_H3抗体定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体は各々、IgGヒンジドメイン、IgG C_H2抗体定常ドメイン、およびIgG C_H3抗体定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、IgGは、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、およびIgG4からなる群から選択されるサブタイプのものである。

10

【0056】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、第1、第2、第3、および第4のポリペプチドの各々内のN末端Aspは、Glnに変異している。

【0057】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、第1、第2、第3、および第4のポリペプチドのうちの1つ以上が、C末端リシンを欠く。いくつかの実施形態では、第1、第2、第3、および第4のポリペプチドは各々、C末端リシンを欠く。

20

【0058】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、リンカーによってポリペプチドのうちの1つ以上のN末端またはC末端に結合されたアルブミン結合ペプチドをさらに含む。

【0059】

本開示の第11の態様のいくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第2のポリペプチドおよび第3のポリペプチドは、異なるアミノ酸配列を有する。

30

【0060】

本開示の第11の態様のいくつかの実施形態では、第1のCD38結合ドメインは、第1のポリペプチドに結合され、第2のCD38結合ドメインは、第2のポリペプチドおよび第3のポリペプチドに結合される。

【0061】

本開示の第11の態様のいくつかの実施形態では、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、E357KおよびK370Dを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、K370DおよびE357Kを含む。

40

【0062】

本開示の第12の態様のいくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第2のポリペプチドおよび第3のポリペプチドは、異なるアミノ酸配列を有する。

【0063】

本開示の第12の態様のいくつかの実施形態では、第2のFcドメイン単量体および第

50

4のFcドメイン単量体は各々、D399KおよびK409Dを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、E357KおよびK370Dを含む。

【0064】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、第1またはCD38結合ドメインは、FabまたはV_Hドメインである。本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、第1および第2のCD38結合ドメインは、Fabである。本開示の第9の態様のいくつかの実施形態では、第1、第2、および第3のCD38結合ドメインは、FabまたはV_Hドメインである。

【0065】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、第1または第2のCD38結合ドメインは、scFvである。本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、第1および第2のCD38結合ドメインは、scFvである。本開示の第9の態様のいくつかの実施形態では、第1、第2、および第3のCD38結合ドメインは、scFvである。

【0066】

本開示の第11の態様のいくつかの実施形態では、第1または第2のCD38結合ドメインは、V_HドメインおよびC_H1ドメインを含み、V_HドメインおよびC_H1ドメインは、第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である。いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、V_Lドメインをさらに含み、いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、V_Lドメインを含む第4のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、V_Hドメインは、表1に記載のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列のセットを含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体の配列を含むV_HドメインのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体のV_H配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_H配列は、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を除き、表2に記載の抗体のV_H配列と少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、または少なくとも99.5%同一であるか、またはV_Hドメインは、表2に記載の抗体のV_H配列を含む。

【0067】

本開示の第12の態様のいくつかの実施形態では、第1、第2、または第3のCD38結合ドメインは、V_HドメインおよびC_H1ドメインを含み、V_HドメインおよびC_H1ドメインは、第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である。いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、V_Lドメインをさらに含み、いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、V_Lドメインを含む第4のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、V_Hドメインは、表1に記載のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列のセットを含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体の配列を含むV_HドメインのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体のV_H配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_H配列は、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を除き、表2に記載の抗体のV_H配列と少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、または少なくとも99.5%同一であるか、またはV_Hドメインは、表2に記載の抗体のV_H配列を含む。

【0068】

本開示の第11の態様のいくつかの実施形態では、第1または第2のCD38結合ドメインは、表1に記載されるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列のセットを含み、CD38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_H配列およびV_L配列のセットからのCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を含み、CD38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_H配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むV_Hドメイン、ならびに表2に記載される抗体のV_L配列の

C D R-L 1、C D R-L 2、およびC D R-L 3を含むV_Lドメインを含み、V_Hドメイン配列およびV_Lドメイン配列は、C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、およびC D R-L 3の配列を除き、表2に記載される抗体のV_HおよびV_Lの配列に対して少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、もしくは少なくとも99.5%同一であるか、またはC D 38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_HおよびV_Lの配列のセットを含む。

【0069】

本開示の第12の態様のいくつかの実施形態では、第1、第2、または第3のC D 38結合ドメインは、表1に記載されるC D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、およびC D R-L 3の配列のセットを含み、C D 38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_H配列およびV_L配列のセットからのC D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、およびC D R-L 3の配列を含み、C D 38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_H配列のC D R-H 1、C D R-H 2、およびC D R-H 3を含むV_Hドメイン、ならびに表2に記載される抗体のV_L配列のC D R-L 1、C D R-L 2、およびC D R-L 3を含むV_Lドメインを含み、V_Hドメイン配列およびV_Lドメイン配列は、C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、およびC D R-L 3の配列を除き、表2に記載される抗体のV_HおよびV_Lの配列に対して少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、もしくは少なくとも99.5%同一であるか、またはC D 38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_HおよびV_Lの配列のセットを含む。

【0070】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、F c抗原結合ドメイン構築体は、I g G C_L抗体定常ドメインおよびI g G C_H1抗体定常ドメインをさらに含み、I g G C_H1抗体定常ドメインは、リンカーによって第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドのN末端に結合している。

【0071】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、第1のF cドメイン単量体および第3のF cドメイン単量体は、第1のF cドメイン単量体と第3のF cドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

【0072】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、第2のF cドメイン単量体および第4のF cドメイン単量体は、第2のF cドメイン単量体と第4のF cドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

【0073】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、F cドメイン単量体の一方のC_H3ドメイン内に改変された空洞と、F cドメイン単量体の他方のC_H3ドメイン内に改変された突起とを含み、改変された空洞および改変された突起は、F cドメイン単量体の空洞内突起対を形成するように配置されている。いくつかの実施形態では、改変された突起は、S 3 5 4 C、T 3 6 6 W、T 3 6 6 Y、T 3 9 4 W、T 3 9 4 F、およびF 4 0 5 Wから選択される少なくとも1つの修飾を含み、改変された空洞は、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、Y 4 0 7 T、Y 4 0 7 A、F 4 0 5 A、およびT 3 9 4 Sから選択される少なくとも1つの修飾を含む。いくつかの実施形態では、F cドメイン単量体の一方が、Y 4 0 7 VおよびY 3 4 9 Cを含み、F cドメイン単量体の他方が、T 3 6 6 WおよびS 3 5 4 Cを含む。

【0074】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、ドメイン単量体の一方のC_H3ドメイン内に負に荷電したアミノ酸と、F cドメイン単量体の他方のC_H3ドメイン内に正に荷電したアミノ酸とを含み、負に荷電したアミノ酸および正に荷電したアミノ酸は、F cドメインの形成を促進するように配置されている。いくつかの実施形態では、第1のF cドメイン単量体および第3のF cドメイン

20

30

40

50

53 L、I 2 5 3 M、I 2 5 3 N、I 2 5 3 P、I 2 5 3 Q、I 2 5 3 R、I 2 5 3 S、I 2 5 3 T、I 2 5 3 V、I 2 5 3 W、およびI 2 5 3 Yから選択される。いくつかの実施形態では、I 2 5 3 位の各アミノ酸修飾は、I 2 5 3 Aである。

【0079】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、Fcドメインのうちの少なくとも1つは、R 2 9 2 位に少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む。いくつかの実施形態では、R 2 9 2 位の各アミノ酸修飾は独立して、R 2 9 2 D、R 2 9 2 E、R 2 9 2 L、R 2 9 2 P、R 2 9 2 Q、R 2 9 2 R、R 2 9 2 T、およびR 2 9 2 Yから選択される。いくつかの実施形態では、R 2 9 2 位の各アミノ酸修飾は、R 2 9 2 Pである。

【0080】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体のうちの1つ以上が、IgGヒンジドメイン、IgG C_H2抗体定常ドメイン、およびIgG C_H3抗体定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体は各々、IgGヒンジドメイン、IgG C_H2抗体定常ドメイン、およびIgG C_H3抗体定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、IgGは、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、およびIgG4からなる群から選択されるサブタイプのものである。

【0081】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、第1、第2、第3、および第4のポリペプチドの各々内のN末端Aspは、Glnに変異している。

【0082】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、第1、第2、第3、および第4のポリペプチドのうちの1つ以上が、C末端リシンを欠く。いくつかの実施形態では、第1、第2、第3、および第4のポリペプチドは各々、C末端リシンを欠く。

【0083】

本開示の第11および第12の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、リンカーによってポリペプチドのうちの1つ以上のN末端またはC末端に結合されたアルブミン結合ペプチドをさらに含む。

【0084】

第13の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させる第1のリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) i) 第3のFcドメイン単量体、ii) 第4のFcドメイン単量体、およびiv) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体とを結合させる第2のリンカーを含む、第2のポリペプチド、ならびにc) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチド、ならびにd) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、または第4のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な群を含む組成物を特徴とし、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第3のFcドメインを形成する。

【0085】

本開示の第13の態様のいくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第2のFcドメイン単量体および第5のFcドメイン単量体は各々、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第4のFcドメイン単量体および第6のFcドメイン単量体は各々、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な

10

20

30

40

50

二量体形成選択性モジュールを含む。

【0086】

第14の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させる第1のリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) i) 第3のFcドメイン単量体、ii) 第4のFcドメイン単量体、およびiv) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体とを結合させる第2のリンカーを含む、第2のポリペプチド、ならびにc) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチド、ならびにe) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、または第4のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な群を含む組成物を特徴とし、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、第1のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、第3のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第3のFcドメインを形成する。

10

【0087】

本開示の第14の態様のいくつかの実施形態では、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第1のFcドメイン単量体および第5のFcドメイン単量体は各々、第1のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第3のFcドメイン単量体および第6のFcドメイン単量体は各々、第3のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

20

【0088】

第15の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、iii) 第3のFcドメイン単量体、iv) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させる第1のリンカー、およびv) 第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体とを結合させる第2のリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) i) 第4のFcドメイン単量体、ii) 第5のFcドメイン単量体、iii) 第6のFcドメイン単量体、iv) 第4のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体とを結合させる第3のリンカー、およびv) 第5のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体とを結合させる第4のリンカーを含む、第2のポリペプチド、c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチド、e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチド、f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチド、ならびにg) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、第4のポリペプチド、第5のポリペプチド、または第6のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な群を含む組成物を特徴とし、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、第1のFcドメイン単量体と第7のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、第4のFcドメイン単量体と第8のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第3のFcドメインを形成し、第3のFcドメイン単量体と第9のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第4のFcドメインを形成し、第6のFcドメイン単量体と第10のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第5のFcドメインを形成する。

30

40

【0089】

本開示の第15の態様のいくつかの実施形態では、第2のFcドメイン単量体および第5のFcドメイン単量体は各々、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第1のFcドメイン単量体および第7のFcドメイン単量体は各々、第1のFcドメイン単量体と第

50

7のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第4のFcドメイン単量体および第8のFcドメイン単量体は各々、第4のFcドメイン単量体と第8のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第3のFcドメイン単量体および第9のFcドメイン単量体は各々、第3のFcドメイン単量体と第9のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第6のFcドメイン単量体および第10のFcドメイン単量体は各々、第6のFcドメイン単量体と第10のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

【0090】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、FabまたはV_Hドメインである。

【0091】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、ポリペプチドうちの1つ以上のアミノ酸配列の一部であり、かつ、いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、scFvである。

【0092】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、V_HドメインおよびC_H1ドメインを含み、V_HドメインおよびC_H1ドメインは、第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である。いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、V_Lドメインをさらに含み、いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、V_Lドメインを含む第4のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、V_Hドメインは、表1に記載のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列のセットを含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体の配列を含むV_HドメインのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_Hドメインは、表2に記載の抗体のV_H配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、V_H配列は、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を除き、表2に記載の抗体のV_H配列と少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、または少なくとも99.5%同一であるか、またはV_Hドメインは、表2に記載の抗体のV_H配列を含む。

【0093】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、表1に記載されるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列のセットを含み、CD38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_H配列およびV_L配列のセットからのCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を含み、CD38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_H配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むV_Hドメイン、ならびに表2に記載される抗体のV_L配列のCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むV_Lドメインを含み、V_Hドメイン配列およびV_Lドメイン配列は、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を除き、表2に記載される抗体のV_HおよびV_Lの配列に対して少なくとも95%同一、少なくとも97%同一、少なくとも99%同一、もしくは少なくとも99.5%同一であるか、またはCD38結合ドメインは、表2に記載される抗体のV_HおよびV_Lの配列のセットを含む。

【0094】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、IgG₁C_L抗体定常ドメインおよびIgG₁C_H1抗体定常ドメインをさらに含み、IgG₁C_H1抗体定常ドメインは、リンカーによって第1のポリペプチドまたは第2のポリペプチドのN末端に結合している。

【0095】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、Fcドメイン単量体の一方のC_H3ドメイン内に改変された空洞と、Fcドメイン単量体の他方のC_H3ドメイン内に改変された突起とを含み、改変された空洞および改変された突起は、Fcドメイン単量体の空洞内突起対を形成するように配置されている。いくつかの実施形態では、改変された突起は、S354C、T366W、T366Y、T394W、T394F、およびF405Wから選択される少なくとも1つの修飾を含み、改変された空洞は、Y349C、T366S、L368A、Y407V、Y407T、Y407A、F405A、およびT394Sから選択される少なくとも1つの修飾を含む。いくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体の一方が、Y407VおよびY349Cを含み、Fcドメイン単量体の他方が、T366WおよびS354Cを含む。

10

【0096】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、ドメイン単量体の一方のC_H3ドメイン内に負に荷電したアミノ酸と、Fcドメイン単量体の他方のC_H3ドメイン内に正に荷電したアミノ酸とを含み、負に荷電したアミノ酸および正に荷電したアミノ酸は、Fcドメインの形成を促進するように配置されている。いくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D399Kと、K409DまたはK409Eのいずれかとを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、K392DおよびD399Kを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、E357KおよびK370Eを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D356KおよびK439Dを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、K392EおよびD399Kを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、E357KおよびK370Dを含み、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、D356KおよびK439Eを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、S354CおよびT366Wを含み、第3と第4のポリペプチドは各々、Y349C、T366S、L368A、およびY407Vを含み、第3および第4のポリペプチドは各々、S354CおよびT366Wを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、Y349C、T366S、L368A、およびY407Vを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、E357KまたはE357Rを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、K370DまたはK370Eを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体の各々は、K370DまたはK370Eを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、E357KまたはE357Rを含み、第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、K409DまたはK409Eを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、D399KまたはD399Rを含むか、または第2のFcドメイン単量体および第4のFcドメイン単量体は各々、D399KまたはD399Rを含み、第3のポリペプチドおよび第4のポリペプチドは各々、K409DまたはK409Eを含む。

20

30

【0097】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のリンカーは、結合である。

40

【0098】

本開示の第13、第14、および第15の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のリンカーは、スペーサーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列

10

20

30

40

50

【0106】

第16の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチド、c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、d) 第1のポリペプチドに結合された第1のCD38結合ドメイン、ならびにe) 第2のポリペプチドおよび／または第3のポリペプチドに結合された第2のCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、第1および第2のCD38結合ドメインは、異なる抗原に結合し、Fc抗原結合ドメイン構築体は、単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害(ADCC)アッセイ、抗体依存性細胞貪食(ADCP)アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害(CDC)アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する。

10

【0107】

第26の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させる第1のリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) iv) 第3のFcドメイン単量体、v) 第4のFcドメイン単量体、およびvi) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体とを結合させる第2のリンカーを含む、第2のポリペプチド、ならびにc) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチド、ならびにd) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、または第4のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第3のFcドメインを形成し、Fc抗原結合ドメイン構築体は、単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害(ADCC)アッセイ、抗体依存性細胞貪食(ADCP)アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害(CDC)アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する。

20

30

【0108】

第27の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させる第1のリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) iv) 第3のFcドメイン単量体、v) 第4のFcドメイン単量体、およびvi) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体とを結合させる第2のリンカーを含む、第2のポリペプチド、ならびにc) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチド、ならびにe) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、または第4のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体は、組み合わせあって第3のFcドメインを形成し、Fc抗原結合ドメイン構築体は、単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む。

40

【0109】

第28の態様では、本開示は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、ii) 第2のFcドメイン単量体、およびiii) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体

50

とを結合させる第1のスペーサーを含む、第1のポリペプチド、b) i v) 第3のFcドメイン単量体、v) 第4のFcドメイン単量体、およびv i) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体とを結合させる第2のスペーサーを含む、第2のポリペプチド、ならびにc) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチド、ならびにe) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、または第4のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体を特徴とし、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第3のFcドメインを形成する。

10

【0110】

第29の態様では、本開示は、Fc抗原結合ドメイン構築体の群を含む細胞培養培地を特徴とし、Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%は、a) i) 第1のFcドメイン単量体、i i) 第2のFcドメイン単量体、およびi i i) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させる第1のリンカーを含む、第1のポリペプチド、b) i v) 第3のFcドメイン単量体、v) 第4のFcドメイン単量体、およびv i) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体とを結合させる第2のリンカーを含む、第2のポリペプチド、ならびにc) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチド、ならびにe) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、または第4のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを含み、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第3のFcドメインを形成する。

20

【0111】

第30の態様では、本開示は、Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法を特徴とし、方法は、a) (1) i) 第1のFcドメイン単量体、i i) 第2のFcドメイン単量体、およびi i i) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体とを結合させる第1のリンカーを含む、第1のポリペプチド、(2) i v) 第3のFcドメイン単量体、v) 第4のFcドメイン単量体、およびv i) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体とを結合させる第2のリンカーを含む、第2のポリペプチド、ならびに(3) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチド、(4) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチド、ならびに(5) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、または第4のポリペプチドに結合されたCD38結合ドメインを発現する、宿主細胞を培養することであって、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体は、組み合わせさせて第3のFcドメインを形成し、細胞培養上清中のFc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、b) 細胞培養上清からFc抗原結合ドメイン構築体を精製することを含む。

30

40

【0112】

本開示の第26、第27、第28、第29、および第30の態様のいくつかの実施形態では、第1のFcドメイン単量体および第3のFcドメイン単量体は各々、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第2のFcドメイン単量体および第5のFcドメイン単量体は各々、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、第4のFcドメイン単量体および

50

第6のFcドメイン単量体は各々、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む。

【0113】

本開示のすべての態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、低減されたフコシル化を有する。したがって、いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体を含む組成物中のFcドメイン単量体の40%、30%、20%、15%、10%、または5%未満がフコシル化されている。

【0114】

本開示のすべての態様のいくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体は、CH3ドメイン中に最大10個（9、8、7、6、5、4、3、2、または1つ）の単一アミノ酸変化を有する図24Aのアミノ酸配列（配列番号43）を含む。

10

【0115】

本開示のすべての態様のいくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体は、CH3ドメイン中に最大10個（9、8、7、6、5、4、3、2、または1つ）の単一アミノ酸変化を有する図24Bのアミノ酸配列（配列番号45）を含む。

【0116】

本開示のすべての態様のいくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体は、CH3ドメイン中に最大10個（9、8、7、6、5、4、3、2、または1つ）の単一アミノ酸変化を有する図24Cのアミノ酸配列（配列番号47）を含む。

【0117】

本開示のすべての態様のいくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体は、CH3ドメイン中に最大10個（9、8、7、6、5、4、3、2、または1つ）の単一アミノ酸変化を有する図24Dのアミノ酸配列（配列番号42）を含む。

20

【0118】

本開示のすべての態様のいくつかの実施形態では、例えば、Fcドメイン単量体がポリペプチドのカルボキシ末端にある場合、Fcドメイン単量体は、K447を含まない。他の実施形態では、例えば、Fcドメイン単量体がポリペプチドのカルボキシ末端にない場合、Fcドメイン単量体は、K447を含む。

【0119】

本開示のすべての態様のいくつかの実施形態では、例えば、Fcドメイン単量体がリンカーのアミノ末端にある場合、Fcドメイン単量体は、E216～C220（両端を含む）のヒンジ部分を含まないが、D221～L235（両端を含む）のヒンジ部分を含む。他の実施形態では、例えば、Fcドメイン単量体がCH1ドメインのカルボキシ末端にある場合、Fcドメイン単量体は、E216～L235（両端を含む）のヒンジ部分を含む。本開示のすべての態様のいくつかの実施形態では、ヒンジドメイン、例えば、ポリペプチドのアミノ末端にあるヒンジドメインは、EUの221位にAspからGlnへの変異を有する。

30

【0120】

上述されるように、本開示のFc抗原結合ドメイン構築体は、2つ以上のIgG1 Fcドメイン単量体を含むポリペプチド等のポリペプチドから組み立てられ、かかるポリペプチドは、本開示の一態様である。

40

【0121】

第41の態様では、本開示は、CD38結合ドメインと、リンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む第1のIgG1 Fcドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む第2のIgG1 Fcドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む任意選択の第3のIgG1 Fcドメイン単量体と、を含む、ポリペプチドを特徴とし、少なくとも1つのFcドメイン単量体は、改変突起を形成する変異を含む。

【0122】

50

第41の様々な実施形態では、CD38結合ドメインは、抗体重鎖可変ドメインを含み；CD38結合ドメインは、抗体軽鎖可変ドメインを含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体は、2つまたは4つの逆電荷変異を含み、第2のIgG1Fcドメイン単量体は、改変突起を形成する変異を含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体は、改変突起を形成する変異を含み、第2のIgG1Fcドメイン単量体は、2つまたは4つの逆電荷変異を含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体と第2のIgG定常ドメイン単量体の両方が、改変突起を形成する変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とを含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体、第2のIgG1Fcドメイン単量体、および第3のIgG1Fcドメイン単量体が、各々、改変突起を形成する変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とを含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体と第2のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、各々、改変突起を形成する変異を含み、第3のIgG1Fcドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とを含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体と第3のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、各々、改変突起を形成する変異を含み、第2のIgG1ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とを含み、この場合において第2のIgG1Fcドメイン単量体と第3のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、各々、改変突起を形成する変異を含み、第1のIgG1ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む。

10

20

【0123】

第41の態様の様々な実施形態では、改変突起を形成する変異を含むIgG1Fcドメイン単量体は、1つ、2つ、または3つの逆電荷変異をさらに含み；改変突起を形成する変異、および逆電荷変異は、CH3ドメインにあり；変異は、EUナンバリングのG341位～EUナンバリングのK447位（両端を含む）配列内にあり；変異は、単一アミノ酸変化であり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSGS, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,

GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGS, GSGS,

GGSGGGSG, GSGGGSGGGSGGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS,

RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,

AAANSSIDLISVPVDSR, GSGGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS,

GGGSGGGSGGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG,

GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGGG

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、グリシンスペーサーであり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、独立して、4～30、4～20、8～30、8～20、12～20、または12～30個のグリシン残基からなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、20個のグリシン残基からなり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのI253位に単一アミノ酸変異を含み、EUナンバリングのI253位の各アミノ酸変異は、独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択され；I253位の各アミノ酸変異は、I253Aであり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのR292位に単一アミノ酸変異を含み；EUナンバリングのR292位の各アミノ酸変異は、独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択され；R292位の各アミノ酸変異は、R292Pであり；各Fcドメイン単量体は、独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELLおよびDKTHTCPPCPAPELLからなる群から選択される

30

40

50

アミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELLを有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELLを有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELLを有し、第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELLを有し；各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは、独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、2つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、10個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、8つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、6つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、5つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、単一アミノ酸置換は、T366Y、T366W、T394W、T394Y、F405W、F405A、Y407A、S354C、Y349T、T394F、K409D、K409E、K392D、K392E、K370D、K370E、D399K、D399R、E357K、E357R、D356K、およびD356Rからなる群から選択され；Fcドメイン単量体の各々は、独立して、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換のうちの最大6つが、CH3ドメイン中の逆電荷変異であるか、または改変突起を形成する変異であり；単一アミノ酸置換は、EUNアンバリングのG341位～EUNアンバリングのK447位（両端を含む）配列内にあり；改変突起を形成する変異のうちの少なくとも1つが、T366Y、T366W、T394W、T394Y、F405W、S354C、Y349T、およびT394Fからなる群から選択され；2つまたは4つの逆電荷変異は、K409D、K409E、K392D、K392E、K370D、K370E、D399K、D399R、E357K、E357R、D356K、およびD356Rから選択され

10

20

30

40

50

；C D 3 8 結合ドメインは、s c F vであり；C D 3 8 結合ドメインは、V HドメインおよびC H 1ドメインを含み；C D 3 8 結合ドメインは、V Lドメインをさらに含み；V Hドメインは、表 1 に記載されるC D R－H 1、C D R－H 2、およびC D R－H 3のセットを含み；V Hドメインは、表 2 に記載される抗体の配列を含むV HドメインのC D R－H 1、C D R－H 2、およびC D R－H 3を含み；V Hドメインは、表 2 に記載される抗体のV H配列のC D R－H 1、C D R－H 2、およびC D R－H 3を含み、V H配列は、C D R－H 1、C D R－H 2、およびC D R－H 3の配列を除き、表 2 に記載される抗体のV H配列に対して少なくとも95%または98%同一であり；V Hドメインは、表 2 に記載される抗体のV H配列を含み；C D 3 8 結合ドメインは、表 1 に記載されるC D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、およびC D R－L 3の配列のセットを含み；C D 3 8 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体のV H配列とV L配列のセットからのC D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、およびC D R－L 3の配列を含み；C D 3 8 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体のV H配列のC D R－H 1、C D R－H 2、およびC D R－H 3を含むV Hドメインと、表 2 に記載される抗体のV L配列のC D R－L 1、C D R－L 2、およびC D R－L 3を含むV Lドメインと、を含み、この場合においてV Hドメインの配列およびV Lドメインの配列は、C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、およびC D R－L 3の配列を除き、表 2 に記載される抗体のV H配列およびV L配列に対して少なくとも95%または98%同一であり；C D 3 8 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体のV H配列とV L配列のセットを含み；C D 3 8 結合ドメインは、I g G C L抗体定常ドメインおよびI g G C H 1抗体定常ドメインを含み；C D 3 8 結合ドメインは、V HドメインおよびC H 1ドメインを含み、V LドメインおよびC Lドメインを含むポリペプチドに結合して、F a bを形成することができる。

【0124】

第1または第2のI g G 1 F cドメイン単量体のヒンジ内のシステイン残基間のジスルフィド結合によって結合された上述のポリペプチドの2つのコピーを含むポリペプチド複合体も記載される。

【0125】

ヒンジドメイン、C H 2ドメイン、およびC H 3ドメインを含むI g G 1 F cドメイン単量体を含む第2のポリペプチドに結合された上述のポリペプチドを含むポリペプチド複合体も記載され、ポリペプチドと第2のポリペプチドは、ポリペプチドの第1、第2、または第3のI g G 1 F cドメイン単量体のヒンジドメイン内のシステイン残基と第2のポリペプチドのヒンジドメイン内のシステイン残基との間のジスルフィド結合によって結合される。

【0126】

複合体の様々な実施形態では、第2のポリペプチド単量体は、改変された空洞を形成する変異を含み、改変された空洞を形成する変異は、Y 4 0 7 T、Y 4 0 7 A、F 4 0 5 A、T 3 9 4 S、T 3 9 4 W/Y 4 0 7 A、T 3 6 6 W/T 3 9 4 S、T 3 6 6 S/L 3 6 8 A/Y 4 0 7 V/Y 3 4 9 C、S 3 6 4 H/F 4 0 5 Aからなる群から選択され、第2のポリペプチドは、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む。

【0127】

第42の態様では、本開示は、C D 3 8 結合ドメインと、リンカーと、ヒンジドメイン、C H 2ドメイン、およびC H 3ドメインを含む第1のI g G 1 F cドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2ドメイン、およびC H 3ドメインを含む第2のI g G 1 F cドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2ドメイン、およびC H 3ドメインを含む任意選択の第3のI g G 1 F cドメイン単量体と、を含む、ポリペプチドを特徴とし、少なくとも1つのF cドメイン単量体は、1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む。

【0128】

10

20

30

40

50

GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGGG

の第3のリンカーは、独立して、4～30、4～20、8～30、8～20、12～20、または12～30個のグリシン残基からなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、20個のグリシン残基からなり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのI253位に単一アミノ酸変異を含み、EUナンバリングのI253位の各アミノ酸変異は、独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択され；I253位の各アミノ酸変異は、I253Aであり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのR292位に単一アミノ酸変異を含み；EUナンバリングのR292位の各アミノ酸変異は、独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択され；R292位の各アミノ酸変異は、R292Pであり；各Fcドメイン単量体は、独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELLおよびDKTHTCPPCPAPELLからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELLを有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELLを有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELLを有し、第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELLを有し；各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは、独立して、2つ以下の単一アミノ酸欠の失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、2つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、10個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、8つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、6つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、5つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、単一アミノ酸置換は、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択され； F c ドメイン単量体の各々は、独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、C H 3 ドメイン中の逆電荷変異であるか、または改変突起を形成する変異であり；単一アミノ酸置換は、E U ナンバリングの G 3 4 1 位～E U ナンバリングの K 4 4 7 位（両端を含む）配列内にあり；改変突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、および T 3 9 4 F からなる群から選択され；2 つまたは 4 つの逆電荷変異は、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R から選択され；C D 3 8 結合ドメインは、s c F v であり；C D 3 8 結合ドメインは、V H ドメインおよび C H 1 ドメインを含み；C D 3 8 結合ドメインは、V L ドメインをさらに含み；V H ドメインは、表 1 に記載される C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 のセットを含み；V H ドメインは、表 2 に記載される抗体の配列を含む V H ドメインの C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含み；V H ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含み、V H 配列は、C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列に対して少なくとも 95% または 98% 同一であり；V H ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列を含み；C D 3 8 結合ドメインは、表 1 に記載される C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 の配列のセットを含み；C D 3 8 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列と V L 配列のセットからの C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 の配列を含み；C D 3 8 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含む V H ドメインと、表 2 に記載される抗体の V L 配列の C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 を含む V L ドメインと、を含み、この場合において V H ドメインの配列および V L ドメインの配列は、C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列および V L 配列に対して少なくとも 95% または 98% 同一であり；C D 3 8 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列と V L 配列のセットを含み；C D 3 8 結合ドメインは、I g G C L 抗体定常ドメインおよび I g G C H 1 抗体定常ドメインを含み；C D 3 8 結合ドメインは、V H ドメインおよび C H 1 ドメインを含み、V L ドメインおよび C L ドメインを含むポリペプチドに結合して、F a b を形成することができる。

【0129】

第 1 または第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体のヒンジ内のシステイン残基間のジスルフィド結合によって結合された上述のポリペプチドのうちのいずれかの 2 つのコピーを含むポリペプチド複合体も記載される。

【0130】

ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む I g G 1 F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドに結合された上述のポリペプチドを含むポリペプチド複合体も記載され、ポリペプチドと第 2 のポリペプチドは、ポリペプチドの第 1、第 2、または第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体のヒンジドメイン内のシステイン残基と第 2 のポリペプチドのヒンジドメイン内のシステイン残基との間のジスルフィド結合によって結合される。様々な実施形態では、第 2 のポリペプチド単量体は、1、2、または 3 つの逆電荷変異を含み、第 2 のポリペプチド単量体は、表 4 A および表 4 B から選択される 1

、2、または3つの逆電荷変異を含み、ポリペプチド内の表4Aおよび表4B選択される1、2、または3つの逆電荷変異に対して相補的であり、第2のポリペプチドは、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む。

【0131】

第43の態様では、本開示は、ヒンジドメイン、CH₂ドメイン、およびCH₃ドメインを含む第1のIgG1Fcドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、CH₂ドメイン、およびCH₃ドメインを含む第2のIgG1Fcドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、CH₂ドメイン、およびCH₃ドメインを含む任意選択の第3のIgG1Fcドメイン単量体と、を含むポリペプチドであって、少なくとも1つのFcドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、ポリペプチドを特徴とする。

【0132】

第43の様々な実施形態では、ポリペプチドは、第1のIgG1単量体に対してアミノ末端である抗体重鎖可変ドメインおよびCH₁ドメイン、または第1のIgG1単量体に対してアミノ末端であるscFvをさらに含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体は、2つまたは4つの逆電荷変異を含み、第2のIgG1Fcドメイン単量体は、改変突起を形成する変異を含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体は、改変突起を形成する変異を含み、第2のIgG1Fcドメイン単量体は、2つまたは4つの逆電荷変異を含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体と第2のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、改変突起を形成する変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とを含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体、第2のIgG1Fcドメイン単量体、および第3のIgG1Fcドメイン単量体が、各々、改変突起を形成する変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とを含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体と第2のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、各々、改変突起を形成する変異を含み、第3のIgG1Fcドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とを含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体と第3のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、各々、改変突起を形成する変異を含み、第2のIgG1ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とを含み、この場合において第2のIgG1Fcドメイン単量体と第3のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、各々、改変突起を形成する変異を含み、第1のIgG1ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む。

【0133】

第43の態様の様々な実施形態では、改変された突起を形成する変異を含むIgG1Fcドメイン単量体は、1、2、または3つの逆電荷変異をさらに含み、改変突起を形成する変異、および逆電荷変異は、CH₃ドメインにあり；変異は、EUナンバリングのG341位～EUナンバリングのK447位（両端を含む）配列内にあり；変異は、単一アミノ酸変化であり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSGS, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,

GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGS, GSGS,

GGSGGGSG, GSGSGSGSGSGSGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS,

RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGSGSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,

AAANSSIDLISVPVDSR, GSGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS,

GGGSGGGSGGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG,

GGGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGG

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、グリシンスペーサーであり；第2のリンカーと任意選択

の第3のリンカーは、独立して、4～30、4～20、8～30、8～20、12～20、または12～30個のグリシン残基からなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、20個のグリシン残基からなり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのI253位に単一アミノ酸変異を含み、EUナンバリングのI253位の各アミノ酸変異は、独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択され；I253位の各アミノ酸変異は、I253Aであり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのR292位に単一アミノ酸変異を含み；EUナンバリングのR292位の各アミノ酸変異は、独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択され；R292位の各アミノ酸変異は、R292Pであり；各Fcドメイン単量体は、独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELLおよびDKTHTCPPCPAPELLからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELLを有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELLを有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELLを有し、第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPELLを有し；各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは、独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、2つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、10個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、8つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、6つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、5つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

を含み、単一アミノ酸置換は、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択され； F c ドメイン単量体の各々は、独立して、最大 1 0 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、C H 3 ドメイン中の逆電荷変異であるか、または改変突起を形成する変異であり；単一アミノ酸置換は、E U ナンバリングの G 3 4 1 位～E U ナンバリングの K 4 4 7 位（両端を含む）配列内にあり；改変突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、および T 3 9 4 F からなる群から選択され；2 つまたは 4 つの逆電荷変異は、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R から選択される。

第44の態様では、本開示は、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む第1のIgG1Fcドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む第2のIgG1Fcドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む任意選択の第3のIgG1Fcドメイン単量体と、を含むポリペプチドであって、少なくとも1つのFcドメイン単量体が、1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、ポリペプチドを特徴とする。

第44の態様の様々な実施形態では、ポリペプチドは、第1のIgG1Fcドメイン単量体に対してアミノ末端である抗体重鎖可変ドメインおよびCH1ドメイン、または第1のIgG1Fcドメイン単量体に対してアミノ末端であるscFvをさらに含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体は、表4Aおよび4Bに記載のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Aおよび4Bに記載のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み、第2のIgG1Fcドメイン単量体は、表4aおよび4bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体は、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、第2のIgG1Fcドメイン単量体は、表4Aおよび4Bに記載のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Aおよび4Bに記載のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み；第1のIgG1Fcドメイン単量体と第2のIgG定常ドメイン単量体の両方が、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体、第2のIgG1Fcドメイン単量体、および第3のIgG1Fcドメイン単量体が、各々、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体と第2のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、各々、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、第3のIgG1Fcドメイン単量体が、表4Aおよび4Bに記載のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Aおよび4Bに記載のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1Fcドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第1のIgG1Fcドメイン単量体と第3のIgG1Fcドメイン単量体の両方が、各々、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み。

10

20

20

20

20

20

20

30

40

50

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

10

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

20

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含み、単一アミノ酸置換は、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択され；

30

F c ドメイン単量体の各々は独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、C H 3 ドメイン中の逆電荷変異であるか、または改変突起を形成する変異であり；単一アミノ酸置換は、E U ナンバリングの G 3 4 1 位～E U ナンバリングの K 4 4 7 位（両端を含む）配列内にあり；V H ドメインまたは s c F v は、表 1 に記載される C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 のセットを含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の配列を含む V H ドメインの C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含み、かつ V H 配列は、C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列に対して少なくとも 9 5 % または 9 8 % 同一であり；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列を含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 1 に記載される C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 の配列のセットを含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列と V L 配列のセットからの C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 の配列を含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含む V H ドメインと、表 2 に記載される抗体の V L 配列の C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 を含む V L ドメインを含み、ここで V H ド

40

50

メイン配列とV Lドメイン配列は、C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、およびC D R－L 3の配列を除き、表2に記載される抗体のV H配列とV L配列に対して少なくとも95%または98%同一であり；V Hドメインまたはs c F vは、表2に記載される抗体のV H配列とV L配列のセットを含む。

【0136】

また、第41、第42、第43、および第44の態様の前述のポリペプチドのいずれかをコードする核酸分子が記載される。

【0137】

また、前述のポリペプチドのいずれかをコードする核酸を含む発現ベクター；核酸または発現ベクターを含有する宿主細胞；抗体V Lドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子（例えば、抗体V Lドメインと抗体C Lドメインとを含むポリペプチドをコードする核酸分子）をさらに含有する宿主細胞；抗体V Lドメインと抗体C Lドメインとを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含有する宿主細胞；10個以下の単一アミノ酸変異を有するI g G 1 F cドメイン単量体を含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含有する宿主細胞；10個以下の単一アミノ酸変異を有するI g G 1 F cドメイン単量体を含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含有する宿主細胞も記載される。様々な実施形態では、I g G 1 F cドメイン単量体は、C H 3ドメイン中に10、8、6、または4つ以下の単一アミノ酸変異を有する配列番号42、43、45、および47のいずれかのアミノ酸配列を含む。

【0138】

本明細書に記載のポリペプチドまたはポリペプチド複合体のうちのいずれかを含有する薬学的組成物も記載される。様々な実施形態では、ポリペプチドの40%、30%、20%、10%、5%、2%未満が、少なくとも1つのフコースを有する。

【0139】

本開示の第41、第42、第43、および第44の態様のポリペプチドは、本明細書に記載の様々なF c抗原結合ドメイン構築体の構成要素として有用である。したがって、第1～第40の態様のいずれかのポリペプチド、例えば、C D 3 8結合ドメインを含み得るものは、本開示の第41、第42、第43、および第44の態様のいずれかのポリペプチドを含み得るか、またはそれからなり得る。

【0140】

本開示のすべての態様における使用に有用な他のポリペプチドには、1、2、または3つの空洞を形成する変異（例えば、Y 4 0 7 T、Y 4 0 7 A、F 4 0 5 A、T 3 9 4 S、T 3 9 4 W：Y 4 0 7 T、T 3 9 4 S：Y 4 0 7 A、T 3 6 6 W：T 3 9 4 S、F 4 0 5 T、T 3 6 6 S：L 3 6 8 A：Y 4 0 7 V：Y 3 4 9 C、S 3 6 4 H：F 4 0 5 Aから選択される）を有するF cドメイン単量体を含む（例えば、8、6、5、4、または3つ以下の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる）ポリペプチドが含まれる。これらのポリペプチドは、任意に、表4Aまたは表4Bからの1、2、または3つの逆電荷変異を含み得る。

【0141】

F c抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のF cドメイン単量体、

i i) 第2のF cドメイン単量体、

i i i) 第1のC D 3 8重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第1および第2のF cドメイン単量体を結合させるリンカー、を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第3のF cドメイン単量体、

i i) 第4のF cドメイン単量体、

10

20

30

40

50

i i i) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第3および第4のFcドメイン単量体を結合させるリンカー、を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、

f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと、を含み、

第1および第3のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第2および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第4および第6のFcドメイン単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体も本明細書に記載される。

【0142】

様々な実施形態では、第1および第2のポリペプチドは、配列内で同一であり；第3および第4のポリペプチドは、配列内で同一であり；第5および第6のポリペプチドは、配列内で同一であり；第1および第2のポリペプチドは、配列内で同一であり；第3および第4のポリペプチドは、配列内で同一であり；第5および第6のポリペプチドは、配列内で同一であり；各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ置換を含み；各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは、ヒトIgGのアミノ酸配列と比較して最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ置換を含み；各Fcドメイン単量体は、独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換は、CH3ドメイン中にのみ存在し；第1および第3のFcドメイン単量体は、第1のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み；第2および第5のFcドメイン単量体は、第2のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、かつ第4および第6のFcドメイン単量体は、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み；ホモ二量体形成を促進する置換は、表4Aおよび4Bの置換から選択され、ヘテロ二量体形成を促進する置換は、表3中の置換から選択される。

【0143】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

i i) 第2のFcドメイン単量体、

i i i) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第1および第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー、を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第3のFcドメイン単量体、

i i) 第4のFcドメイン単量体、

i i i) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第3および第4のFcドメイン単量体を結合させるリンカー、を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体と第1のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体と第2のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第4のポリペプチドと、を含み、

第1および第3のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第2および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第4および第6のFcドメイン単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体も記載される。

【0144】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、
 i) 第1のFcドメイン単量体、
 ii) 第2のFcドメイン単量体、
 iii) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、および
 iv) 前記第1および第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー、を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、
 i) 第3のFcドメイン単量体、
 ii) 第4のFcドメイン単量体、
 iii) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および
 iv) 前記第3および第4のFcドメイン単量体を結合させるリンカー、を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
 d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、
 e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、
 f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと、を含み、

第1および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第3および第6のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2および第4のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFを形成する。

【0145】

様々な実施形態では、第1および第2のポリペプチドは、配列内で同一であり；第3および第4のポリペプチドは、配列内で同一であり；第5および第6のポリペプチドは、配列内で同一であり；第1および第2のポリペプチドは、配列内で同一であり；第3および第4のポリペプチドは、配列内で同一であり；第5および第6のポリペプチドは、配列内で同一であり；各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ置換を含み；各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ置換を含み；各Fcドメイン単量体は、独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換は、CH3ドメイン中にのみ存在し；第2および第4のFcドメイン単量体は、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み；第1および第5のFcドメイン単量体は、第1のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、かつ第3および第6のFcドメイン単量体は、第4のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一

10

20

30

40

50

アミノ酸置換を含み；ホモ二量体形成を促進する置換は、表 4 A および 4 B の置換から選択され；ヘテロ二量体形成を促進する置換は、表 3 の置換から選択される。

【0146】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 6 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体を含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の F c ドメイン単量体を含む第 6 のポリペプチドと、

g) 第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 7 のポリペプチドと、

h) 第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 8 のポリペプチドと、を含み、

第 1 および第 7 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 4 および第 8 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 5 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 3 および第 9 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 4 の F c ドメインを形成し、第 6 および第 10 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 5 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体も記載される。

【0147】

様々な実施形態では、第 1 のポリペプチドおよび第 2 のポリペプチドの配列は同一であり、第 3 のポリペプチドおよび第 4 のポリペプチドの配列は同一であり、第 5 のポリペプチドおよび第 6 のポリペプチドの配列は同一であり、第 7 のポリペプチドおよび第 8 のポリペプチドの配列は同一であり、第 1 のポリペプチドおよび第 2 のポリペプチドの配列は同一であり、第 3 のポリペプチドおよび第 4 のポリペプチドの配列は同一であり、第 5 のポリペプチドおよび第 6 のポリペプチドの配列は同一であり、第 7 のポリペプチドおよび第 8 のポリペプチドの配列は同一であり、F c ドメイン単量体の各々の C H 3 ドメインは、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、F c ドメイン単量体の各々の C H 3 ドメインは、ヒト I g G 1 のアミノ酸配列と比較して最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、F c ドメイン単量体は独立して、最大 10、8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含み、単一アミノ酸置換は、C H 3 ドメイン内のみであり、第 2 の F c ドメイン単量体および第 5 の

F c ドメイン単量体は、第 2 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、第 1 の F c ドメイン単量体および第 7 の F c ドメイン単量体は、第 1 の F c ドメイン単量体と第 7 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、第 4 の F c ドメイン単量体および第 8 の F c ドメイン単量体は、第 4 の F c ドメイン単量体と第 8 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、第 3 の F c ドメイン単量体および第 9 の F c ドメイン単量体は、第 3 の F c ドメイン単量体と第 9 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、第 6 の F c ドメイン単量体および第 10 の F c ドメイン単量体は、第 6 の F c ドメイン単量体と第 10 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、ホモ二量体形成を促進する置換は、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択され、ヘテロ二量体形成を促進する置換は、表 3 中の置換から選択される。

10

【0148】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

20

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

30

v) 第 4 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 6 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体と第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の F c ドメイン単量体と第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 6 のポリペプチドと、を含み、

40

第 1 および第 7 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 4 および第 8 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 5 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 3 および第 9 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 4 の F c ドメインを形成し、第 6 および第 10 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 5 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体も記載される。

【0149】

50

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 6 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体を含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の F c ドメイン単量体を含む第 6 のポリペプチドと、

g) 第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 7 のポリペプチドと、

h) 第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 8 のポリペプチドと、を含み、

第 1 および第 4 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 7 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 5 および第 8 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 3 および第 9 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 4 の F c ドメインを形成し、第 6 および第 10 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 5 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体も記載される。

【0150】

様々な実施形態では、第 1 のポリペプチドおよび第 2 のポリペプチドの配列は同一であり、第 3 のポリペプチドおよび第 4 のポリペプチドの配列は同一であり、第 5 のポリペプチドおよび第 6 のポリペプチドの配列は同一であり、第 7 のポリペプチドおよび第 8 のポリペプチドの配列は同一であり、第 1 のポリペプチドおよび第 2 のポリペプチドの配列は同一であり、第 3 のポリペプチドおよび第 4 のポリペプチドの配列は同一であり、第 5 のポリペプチドおよび第 6 のポリペプチドの配列は同一であり、第 7 のポリペプチドおよび第 8 のポリペプチドの配列は同一であり、F c ドメイン単量体の各々の C H 3 ドメインは、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、F c ドメイン単量体の各々の C H 3 ドメインは、ヒト I g G 1 のアミノ酸配列と比較して最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、F c ドメイン単量体は各々独立して、最大 10、8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含み、単一アミノ酸置換は、C H 3 ドメイン内のみであり、第 1 の F c ドメイン単量体および第 4 の F c ドメイン単量体は、第 1 の F c ドメイン単量体と第 4 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、第 2 の F c ドメイン単量体および第 7 の F c ドメイン単量体は、第 2 の

F c ドメイン単量体と第 7 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、第 5 の F c ドメイン単量体および第 8 の F c ドメイン単量体は、第 5 の F c ドメイン単量体と第 8 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、第 3 の F c ドメイン単量体および第 9 の F c ドメイン単量体は、第 3 の F c ドメイン単量体と第 9 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、第 6 の F c ドメイン単量体および第 10 の F c ドメイン単量体は、第 6 の F c ドメイン単量体と第 10 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、ホモ二量体形成を促進する置換は、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択され、ヘテロ二量体形成を促進する置換は、表 3 中の置換から選択される。

10

【0151】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

20

v i) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

30

v i) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 6 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体と第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の F c ドメイン単量体と第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 6 のポリペプチドと、を含み、

第 1 および第 4 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 7 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 5 および第 8 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 3 および第 9 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 4 の F c ドメインを形成し、第 6 および第 10 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 5 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体も記載される。

40

【0152】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

50

- i i) 第2のFcドメイン単量体、
- i i i) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、
- b) 第2のポリペプチドであって、
 - i) 第3のFcドメイン単量体、
 - i i) 第4のFcドメイン単量体、
 - i i i) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、
- c) 第5のFcドメイン単量体と第1のCD38重鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、
- d) 第6のFcドメイン単量体第2のCD38重鎖結合ドメインを含む第4のポリペプチドと、

10

e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、
 f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと、を含み、
 第1および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、
 第3および第6のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2
 および第4のFcドメイン単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1
 のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1の
 Fabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは
 、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体も記載される。

20

【0153】

様々な実施形態では、第1および第2のポリペプチドは、配列内で同一であり；第3お
 よび第4のポリペプチドは、配列内で同一であり；第5および第6のポリペプチドは、配
 列内で同一であり；第1および第2のポリペプチドは、配列内で同一であり；第3および
 第4のポリペプチドは、配列内で同一であり；第5および第6のポリペプチドは、配列内
 で同一であり；各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは、最大8、7、6、5、4、3
 、2、または1つの単一アミノ置換を含み；各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは、
 ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの
 単一アミノ置換を含み；各Fcドメイン単量体は、独立して、最大10、8、7、6、5
 、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、およ
 び47のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換は、CH3ドメイン中にのみ
 存在し；第2および第4のFcドメイン単量体は、第2のFcドメイン単量体と第4のF
 cドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、
 または1つの単一アミノ酸置換を含み；第1および第5のFcドメイン単量体は、第1の
 Fcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最
 大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、かつ第3および
 第6のFcドメイン単量体は、第3のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体と
 の間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一
 アミノ酸置換を含み；ホモ二量体形成を促進する置換は、表4Aおよび4Bの置換から選
 択され；ヘテロ二量体形成を促進する置換は、表3の置換から選択される。

30

40

【0154】

- Fc抗原結合ドメイン構築体であって、
- a) 第1のポリペプチドであって、
 - i) 第1のFcドメイン単量体、
 - i i) 第2のFcドメイン単量体、
 - i i i) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、および
 - i v) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体を結合するリンカーを
含む、第1のポリペプチドと、
 - b) 第2のポリペプチドであって、
 - i) 第3のFcドメイン単量体、

50

- i i) 第4のFcドメイン単量体、
 - i i i) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および
 - i v) 第3のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、
 - c) 第5のFcドメイン単量体と第3のCD38重鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、
 - d) 第6のFcドメイン単量体と第4のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第4のポリペプチドと、
 - e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、
 - f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと、
 - g) 第3のCD38軽鎖結合ドメインを含む第7のポリペプチドと、
 - h) 第4のCD38軽鎖結合ドメインを含む第8のポリペプチドと、を含み、
- 第1および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第3および第6のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2および第4のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38軽鎖結合ドメインと第3のCD38重鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38軽鎖結合ドメインと第4のCD38重鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成し、第3のCD38軽鎖結合ドメインと第1のCD38重鎖結合ドメインは、一緒になって第3のFabを形成し、第4のCD38軽鎖結合ドメインと第2のCD38重鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する。

10

20

【0155】

様々な実施形態では、第1および第2のポリペプチドは、配列内で同一であり；第3および第4のポリペプチドは、配列内で同一であり；第5、第6、第7、および第8のポリペプチドは、配列内で同一であり；第1および第2のポリペプチドは、配列内で同一であり；第3および第4のポリペプチドは、配列内で同一であり；第5、第6、第7、および第8のポリペプチドは、配列内で同一であり；各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ置換を含み；各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ置換を含み；各Fcドメイン単量体は、独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換は、CH3ドメイン中にのみ存在し；第2および第4のFcドメイン単量体は、第2のFcドメイン単量体と第4のFcドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み；第1および第5のFcドメイン単量体は、第1のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、かつ第3および第6のFcドメイン単量体は、第3のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み；ホモ二量体形成を促進する置換は、表4Aおよび4Bの置換から選択され；ヘテロ二量体形成を促進する置換は、表3の置換から選択される。

30

40

【0156】

様々な実施形態では、

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSGS, SGGG, GSGS,
 GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,
 GSGSGSGSGS, GSGS, GSGS, GSGGGSG,
 GSGSGSGSGSGSGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT,
 RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,
 AAANSSIDLISVPVDSR, GSGGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS,
 GGGSGGGSGGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGGGS, GGGG,
 GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGGG

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUのI253位に置換を含み；EUのI253位の各アミノ酸置換は、独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択され；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUのR292位に置換を含み；EUのR292位の各アミノ酸変異は、独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択され；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、T366Y、T366W、T394W、T394Y、F405W、F405A、Y407A、S354C、Y349T、T394F、K409D、K409E、K392D、K392E、K370D、K370E、D399K、D399R、E357K、E357R、D356K、およびD356Rからなる群から選択される置換を含み、各Fcドメイン単量体のヒンジは独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELLおよびDKTHTCPPCPAPELLからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる。

【0157】

本開示のすべての態様では、Fcドメイン単量体の一部または全部（例えば、10、8、6、または4つ以下の単一アミノ酸置換（例えば、CH3ドメイン内のみ）を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含むFcドメイン単量体）は、他のアミノ酸置換または改変に加えて、E345KおよびE430Gアミノ酸置換のうちの一方または両方を有することができる。E345KおよびE430Gアミノ酸置換は、Fcドメイン多量体形成を増加させることができる。

【0158】

定義：

本明細書に記載される場合、「Fcドメイン単量体」という用語は、少なくともヒンジドメイン、ならびに第2および第3の抗体定常ドメイン（C_H2およびC_H3）、またはそれらの機能性断片（例えば、少なくともヒンジドメインまたはその機能性断片、CH2ドメインまたはその機能性断片、およびCH3ドメインまたはその機能性断片）（例えば、（i）別のFcドメイン単量体と二量体形成してFcドメインを形成し、そして（ii）Fc受容体に結合することができる断片）を含むポリペプチド鎖を指す。好ましいFcドメイン単量体は、アミノ末端からカルボキシ末端へ、IgG1ヒンジ、IgG1 C_H2ドメインおよびIgG1 C_H3ドメインの少なくとも一部分を含む。したがって、Fcドメイン単量体、例えば、ヒトIgG1 Fcドメイン単量体は、E316～G446もしくはK447、P317～G446もしくはK447、K318～G446もしくはK447、K318～G446もしくはK447、S319～G446もしくはK447、C320～G446もしくはK447、D321～G446もしくはK447、K322～G446もしくはK447、T323～G446もしくはK447、K323～G446もしくはK447、H324～G446もしくはK447、T325～G446もしくはK447、またはC326～G446もしくはK447にわたることができる。Fcドメイン単量体は、IgG、IgE、IgM、IgAまたはIgDを含む、任意の免疫グ

ロブリン抗体アイソタイプとすることが可能である（例えば、I g G）。さらに、F c ドメイン単量体は、I g G サブタイプ（例えば、I g G 1、I g G 2 a、I g G 2 b、I g G 3、またはI g G 4）であり得る（例えば、ヒトI g G 1）。ヒトI g G 1 F c ドメイン単量体が、本明細書に記載される実施例において使用される。ヒトI g G 1 の完全ヒンジドメインは、E U ナンバリングE 3 1 6 ~ P 2 3 0 またはL 2 3 5 にわたり、C H 2 ドメインは、A 2 3 1 またはG 2 3 6 ~ K 3 4 0 にわたり、C H 3 ドメインは、G 3 4 1 ~ K 4 4 7 にわたる。ヒンジドメインの最後のアミノ酸の位置については異なる見解がある。それは、P 2 3 0 またはL 2 3 5 のいずれかである。本明細書の多くの実施例において、C H 3 ドメインはK 3 4 7 を含まない。ゆえにC H 3 ドメインは、G 3 4 1 ~ G 4 4 6 であってもよい。本明細書の多くの実施例において、ヒンジドメインは、E 2 1 6 ~ L 2 3 5 を含む得る。これは、例えば、ヒンジがC H 1 ドメインまたはC D 3 8 結合ドメインに対してカルボキシ末端であるときに当てはまる。例えばヒンジがポリペプチドのアミノ末端であるときなどのいくつかの例では、E U ナンバリング2 2 1 のA s p は、G l n に変異される。F c ドメイン単量体は、抗原認識領域、例えば可変領域または相補性決定領域（C D R）として機能することが可能である、免疫グロブリンの部分は何も含まない。F c ドメイン単量体は、野生型（例えば、ヒト）F c ドメイン単量体配列からの変更を1 0 程度（例えば、1 ~ 1 0、1 ~ 8、1 ~ 6、1 ~ 4 のアミノ酸置換、付加、または欠失）含有することが可能であり、該変更は、F c ドメインとF c 受容体との間の相互作用を変える。F c ドメイン単量体は、野生型F c ドメイン単量体配列（例えば、1 ~ 1 0、1 ~ 8、1 ~ 6、1 ~ 4 のアミノ酸置換、付加または欠失）からの変更（例えば、単一アミノ酸置換）を1 0 程度含有することが可能であり、当該変更は、F c ドメイン単量体間の相互作用を変える。特定の実施形態では、以下のヒトI g G 1 C H 3 ドメイン配列と比較して、C H 3 ドメイン上に、最大1 0、8、6 または5 つの単一アミノ酸置換が存在する：

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCSV

MHEALHNHYTQKSLSLSPG

。好適な変更の例は、この技術分野で既知である。

【0159】

本明細書で使用される場合、「F c ドメイン」という用語は、F c 受容体を結合することが可能である2 つのF c ドメイン単量体による二量体を指す。野生型F c ドメインでは、2 つのF c ドメイン単量体が2 つのC_H 3 抗体定常ドメイン間の相互作用、ならびに二量体形成している2 つのF c ドメイン単量体のヒンジドメイン間に形成される1 つ以上のジスルフィド結合によって二量体形成する。

【0160】

本開示において、「F c 抗原結合ドメイン構築体」という用語は、本明細書に記載のF c ドメインを少なくとも2 つ形成し、少なくとも1 つの「抗原結合ドメイン」を含む会合したポリペプチド鎖を指す。本明細書に記載されるF c 抗原結合ドメイン構築体は、同一または異なる配列を有するF c ドメイン単量体を含むことが可能である。例えば、F c 抗原結合ドメイン構築体は、3 つのF c ドメインを有することが可能であり、そのうちの2 つがI g G 1 またはI g G 1 に由来するF c ドメイン単量体を含み、3 つ目がI g G 2 またはI g G 2 に由来するF c ドメイン単量体を含む。別の例では、F c 抗原結合ドメイン構築体は、3 つのF c ドメインを有することができ、それらのうちの2 つが「空洞内突起対」を含み、3 つ目は「空洞内突起対」を含まない。F c ドメインは、例えばF c γ R I、F c γ R I I a、F c γ R I I b、F c γ R I I I a、F c γ R I I I b、またはF c γ R I V であるF c 受容体と結合する最小限の構造を形成する。

【0161】

本明細書で使用される場合、「抗原結合ドメイン」という用語は、標的分子に特異的に結合することができるペプチド、ポリペプチド、または会合したポリペプチドのセットを指す。いくつかの実施形態では、「抗原結合ドメイン」は、抗体により結合される抗体に、特異性をもって結合する抗体の最小配列である。当技術分野で既知の表面プラズモン共

鳴 (SPR: Surface plasmon resonance) または様々な免疫アッセイ (例えば、ウエスタンブロットまたはELISA) を使用して、抗原に対する抗体の特異性を評価することができる。いくつかの実施形態では、「抗原結合ドメイン」は、抗体の可変ドメインまたは相補性決定領域 (CDR)、例えば、表1に記載される抗体の1つ以上のCDR、表2に記載される抗体の1つ以上のCDR、または表2に記載される抗体のVHドメインおよび／もしくはVLドメインを含む。いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは、VHドメインおよびCH1ドメインを、任意にVLドメインとともに含み得る。他の実施形態では、抗原 (例えば、CD38) 結合ドメインは、抗体のFab断片またはscFvである。したがって、CD38結合ドメインは、VHドメインおよびCH1ドメインを含むか、またはそれからなる「CD38重鎖結合ドメイン」と、VLドメインおよびCLドメインを含むか、またはそれからなる「CD38軽鎖結合ドメイン」とを含み得る。CD38結合ドメインは、フィブロネクチン系の結合タンパク質 (例えば、フィブロネクチンIII型ドメイン (FN3) モノボディ) などの標的に特異的に結合する合成的に改変されたペプチドであってもよい。

10

【0162】

本明細書で使用される場合、「相補性決定領域」 (CDR) という用語は、抗体の可変ドメインのアミノ酸残基を指し、その存在はCD38結合に必須である。各可変ドメインは通常、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3、ならびにCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3として識別される3つのCDR領域を有する。各相補性決定領域は、Kabatにより規定される場合の「相補性決定領域」からのアミノ酸残基 (すなわち、軽鎖可変ドメイン中のおよそ24-34残基 (CDR-L1)、50-56残基 (CDR-L2)、および89-97残基 (CDR-L3)、ならびに重鎖可変ドメイン中の31-35残基 (CDR-H1)、50-65残基 (CDR-H2)、および95-102残基 (CDR-H3); Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))、および／または「超可変ループ (hypervariable loop)」からのそれら残基 (すなわち、軽鎖可変ドメイン中のおよそ26-32残基 (CDR-L1)、50-52残基 (CDR-L2)、および91-96残基 (CDR-L3)、ならびに重鎖可変ドメイン中の26-32残基 (CDR-H1)、53-55残基 (CDR-H2)、および96-101残基 (CDR-H3); Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)) を含んでもよい。いくつかの事例では、相補性決定領域は、Kabatに従い規定されるCDR領域と、超可変ループの両方からのアミノ酸を含み得る。

20

30

【0163】

「フレームワーク領域 (Framework regions)」 (以下、FR) は、CDR残基以外のそれら可変ドメイン残基である。各可変ドメインは通常、FR1、FR2、FR3、およびFR4として識別される4つのFRを有する。CDRがKabatに従い規定される場合、軽鎖FR残基はおよそ1-23残基 (LCFR1)、35-49残基 (LCFR2)、57-88残基 (LCFR3)、および98-107残基 (LCFR4) に位置付けられ、重鎖FR残基は重鎖残基中、およそ1-30残基 (HCFR1)、36-49残基 (HCFR2)、66-94残基 (HCFR3)、および103-113残基 (HCFR4) に位置付けられる。CDRが超可変ループ由来のアミノ酸残基を含む場合、軽鎖FR残基は、軽鎖中、およそ1-25残基 (LCFR1)、33-49残基 (LCFR2)、53-90残基 (LCFR3)、および97-107残基 (LCFR4) に位置付けられ、重鎖FR残基は、重鎖残基中、およそ1-25残基 (HCFR1)、33-52残基 (HCFR2)、56-95残基 (HCFR3)、および102-113残基 (HCFR4) に位置付けられる。いくつかの事例では、CDRが、Kabatに規定されるCDRと、超可変ループの両方からのアミノ酸を含む場合、FR残基は、適切に調

40

50

整されるであろう。

【0164】

「Fv」断片は、完全な抗原認識および結合の部位を含有する抗体断片である。この領域は、緊密に会合した1つの重鎖可変ドメインと1つの軽鎖可変ドメインの二量体からなり、例えばscFvにおいては共有結合性であり得る。この構造において、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用して、V_H-V_L二量体の表面上のCD38結合部位を画定する。

【0165】

「Fab」断片は、軽鎖の可変ドメインと定常ドメイン、および重鎖の可変ドメインと第1の定常ドメイン(C_H1)を含む。F(ab')₂抗体断片は、一般的にヒンジステインによりそのカルボキシ末端近傍で共有結合されるFab断片の対を含む。

10

【0166】

「一本鎖Fv」または「scFv」抗体断片は、単一ポリペプチド鎖中に抗体のV_HドメインとV_Lドメインを含む。一般的に、scFvは、V_HドメインとV_Lドメインとの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、それによりscFvはCD38結合のための所望の構造を形成することが可能になる。

【0167】

本明細書で使用される場合、「抗体定常ドメイン」という用語は、抗体の定常領域ドメイン(例えば、C_L抗体定常ドメイン、C_H1抗体定常ドメイン、C_H2抗体定常ドメイン、またはC_H3抗体定常ドメイン)に相当するポリペプチドを指す。

20

【0168】

本明細書で使用される場合、「促進する」という用語は、例えば他の別個のFcドメイン単量体に対するよりも、互いに高い結合親和性を有する2つのFcドメイン単量体でFcドメインを形成することを支持するといったように、促すことおよび支持することを意味する。本明細書に記載されるように、結合してFcドメインを形成する2つのFcドメイン単量体は、それらの各C_H3抗体定常ドメインの界面において適合可能なアミノ酸改変(例えば、改変された突起および改変された空洞、ならびに／または静電的ステアリング変異)を有することが可能である。適合可能なアミノ酸改変は、こうしたアミノ酸改変を有さない、または適合しないアミノ酸改変をもつ他のFcドメイン単量体よりも、こうしたFcドメイン単量体同士での選択的な相互作用を促進するまたは支持する。これは、相互作用する2つのC_H3抗体定常ドメインの界面におけるアミノ酸改変に起因して、Fcドメイン単量体が、アミノ酸改変を有さない他のFcドメイン単量体に対するよりも互いに対して高い親和性を有することを理由に起こる。

30

【0169】

本明細書で使用される場合、「二量体形成選択性モジュール」という用語は、2つのFcドメイン単量体間の好都合な対形成を促進するFcドメイン単量体の配列を指す。「相補的」な二量体形成選択性モジュールは、2つのFcドメイン単量体の互いに対する選択的な相互作用を促進するまたは支持する二量体形成選択性モジュールである。相補的な二量体形成選択性モジュールは、同一の配列または異なる配列を有することが可能である。例示的な相補的な二量体形成選択性モジュールが本明細書に記載される。

40

【0170】

本明細書で使用される場合、「改変された空洞(engineered cavity)」という用語は、C_H3抗体定常ドメイン内の本来のアミノ酸残基のうちの少なくとも1つが、本来のアミノ酸残基よりも低分子量の側鎖を有する異なるアミノ酸残基で置換されることによって、C_H3抗体定常ドメイン内に形成された三次元の空洞を指す。「本来のアミノ酸残基」という用語は、野生型のC_H3抗体定常ドメインの遺伝コードによってコードされた天然のアミノ酸残基を指す。

【0171】

本明細書で使用される場合、「改変された突起(engineered protuberance)」という用語は、C_H3抗体定常ドメイン内の本来のアミノ酸残基のうち

50

の少なくとも1つが、本来のアミノ酸残基よりも高分子量の側鎖を有する異なるアミノ酸残基で置換されることによって、C_H3抗体定常ドメイン内に形成された三次元の突起を指す。「本来のアミノ酸残基」という用語は、野生型のC_H3抗体定常ドメインの遺伝コードによってコードされた天然のアミノ酸残基を指す。

【0172】

「空洞に突起が挿入された対」という用語は、第1のFcドメイン単量体とそのC_H3抗体定常ドメイン内に改変された空洞を含む一方で、第2のFcドメイン単量体とそのC_H3抗体定常ドメイン内に改変された突起を含むものである2つのFcドメイン単量体を含んだFcドメインを説明するものである。空洞に突起が挿入された対においては、第1のFcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメイン内の改変された突起は、該突起が第2のFcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメイン内の改変された空洞と、C_H3抗体定常ドメイン間の界面における二量体の正常な会合を有意に邪魔することなく相互作用するように配置される。

【0173】

本明細書で使用される場合、「ヘテロ二量体Fcドメイン」という用語は、2つのFcドメイン単量体のヘテロ二量体形成によって形成されるFcドメインを指し、これらの2つのFcドメイン単量体は、これらの2つのFcドメイン単量体の好ましい形成を促進する異なる逆電荷変異（例えば、表4Aおよび表4B中の変異を参照のこと）を含む。3つのFcドメイン、すなわち1つのカルボキシル末端の「幹」Fcドメインと、2つのアミノ末端の「枝」Fcドメインとを有するFc構築体において、アミノ末端の「枝」Fcドメインのそれぞれが、ヘテロ二量体のFcドメイン（「枝ヘテロ二量体Fcドメイン」とも称される）であってもよい。

【0174】

本明細書で使用される場合、Fc抗原結合ドメイン構築体の群に関連する「構造的に同一」という用語は、同じポリペプチド配列が同じ比率および構成で組み立てられた構築体を指し、例えばグリコシル化などのいずれの翻訳後修飾も指していない。

【0175】

本明細書で使用される場合、「ホモ二量体Fcドメイン」という用語は、2つのFcドメイン単量体のホモ二量体形成によって形成されるFcドメインを指すものであって、当該2つのFcドメイン単量体は、同一の逆電荷の変異（例えば、表5および6の変異を参照）を含有する。3つのFcドメイン、すなわち1つのカルボキシル末端の「幹」Fcドメインと、2つのアミノ末端の「枝」Fcドメインとを有するFc構築体において、カルボキシル末端の「幹」Fcドメインは、ホモ二量体のFcドメイン（「幹ホモ二量体Fcドメイン」とも称される）であってもよい。

【0176】

本明細書で使用される場合、「ヘテロ二量体形成選択性モジュール」という用語は、適合するヘテロ二量体形成選択性モジュールを有する2つのFcドメイン単量体の好ましいヘテロ二量体形成を促進するために、Fcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメイン内に作製することが可能である、改変された突起、改変された空洞および特定の逆電荷のアミノ酸置換を指す。ヘテロ二量体形成選択性モジュールを含有するFcドメイン単量体が結合して、ヘテロ二量体Fcドメインを形成し得る。ヘテロ二量体形成選択性モジュールの例を、表3および4に示している。

【0177】

本明細書で使用される場合、「ホモ二量体形成選択性モジュール」という用語は、Fcドメイン単量体のホモ二量体形成を促進してホモ二量体Fcドメインを形成するC_H3ドメイン間の界面において電荷をもつ残基の環の範囲内の少なくとも2つの位置におけるFcドメイン単量体内の逆電荷の変異を指す。ホモ二量体形成選択性モジュールの例を、表4および5に示している。

【0178】

本明細書で使用される場合、「連結する」という用語は、化学的複合体化、組換え手段

10

20

30

40

50

50

50

本明細書で使用される場合、「アルブミン結合ペプチド」という用語は、血清アルブミンに対する親和性および血清アルブミンを結合する機能を有する12～16のアミノ酸のアミノ酸配列を指す。アルブミン結合ペプチドは、例えばヒト、マウスまたはラットであ

る様々な起源のものとすることが可能である。本開示のいくつかの実施形態では、アルブミン結合ペプチドが、Fcドメイン単量体のC末端に融合され、Fc抗原結合ドメイン構築体の血清半減期が増加する。アルブミン結合ペプチドは、直接またはリンカーを介して、Fcドメイン単量体のN末端またはC末端と融合することが可能である。

【0183】

本明細書で使用される場合、「精製用ペプチド」という用語は、ポリペプチドの精製、単離または同定に用いることが可能である任意の長さのペプチドを指す。精製用ペプチドは、ポリペプチドに連結して、例えば細胞溶解混合物からの、ポリペプチドの精製および／またはポリペプチドの単離を支援し得る。いくつかの実施形態では、精製用ペプチドは、精製用ペプチドに対して特異的な親和性を有する別の部分と結合する。いくつかの実施形態では、精製用ペプチドと特異的に結合するこうした部分は、基剤、樹脂またはアガロースビーズ等の固相支持体に付加する。Fc抗原結合ドメイン構築体に結合され得るペプチドの精製例を、本明細書においてさらに詳細に記載する。

【0184】

本明細書で使用される場合、「多量体」という用語は、本明細書に記載の会合したFc構築体またはFc抗原結合ドメイン構築体を少なくとも2つ含む分子を指す。

【0185】

本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド」という用語は、オリゴヌクレオチドまたはヌクレオチド、およびその断片または部分を指し、またゲノム由来もしくは合成由来のDNAまたはRNAを指し、それは一本鎖または二本鎖であり、センス鎖またはアンチセンス鎖を表し得る。単一のポリヌクレオチドが、単一のポリペプチドに翻訳される。

【0186】

本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」という用語は、モノマーがアミド結合を介してともに連結するアミノ酸残基であるような単一のポリマーを説明している。ポリペプチドは、天然、組換えまたは合成的に産生されるかのいずれかである任意のアミノ酸配列を包含することを意図する。

【0187】

本明細書で使用される場合、「アミノ酸位置」という用語は、タンパク質またはタンパク質ドメイン内のアミノ酸の位置番号を指す。アミノ酸位置は、指示された場合（例えば、CDRおよびFR領域について）、Kabata Nomenclature System (Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md., ed 5, 1991))を使用して番号付け、そうでない場合は、EU Nomenclature Systemを使用した。

【0188】

図24A～24Dは、EU Nomenclature Systemを使用して番号付けされたヒトIgG1 Fcドメインを示す。

【0189】

本明細書で使用される場合、「アミノ酸改変」という用語は、参照配列（例えば、野生型の、非変異の、または改変されていないFc配列）と比較して、Fc構築体の薬物動態（PK）および／または薬力学（PD）の性質、血中半減期、エフェクター機能（例えば、細胞溶解（例えば、抗体依存性細胞介在性傷害（ADCC）および／または補体依存性細胞傷害活性（CDC））、貪食（例えば、抗体依存性細胞貪食（ADCP）および／または補体依存性細胞傷害（CDC））、免疫活性化およびT細胞活性化）、Fc受容体（例えば、Fc-γ受容体（FcγR）（例えば、FcγRI（CD64）、FcγRIIa（CD32）、FcγRIIb（CD32）、FcγRIIIa（CD16a）および／またはFcγRIIIb（CD16b））、Fc-α受容体（FcαR）、Fc-ε受容体（FcεR）および／または胎児性Fc受容体（FcRn））に対するアフィニティー、補体カスケードに参与するタンパク質（例えば、C1q）に対するアフィニティー、翻訳後修飾（例えば、グリコシル化、シアリル化）、凝集性（例えば

、二量体（例えば、ホモ二量体および／またはヘテロ二量体）および／または多量体を形成する能力）、および生物物理学的性質（例えば、 C_H 1 および C_L 間の相互作用を変える、安定性を変える、ならびに／または、温度および／もしくは pH に対する感度を変える）に対して効果を発揮し、そして免疫学的疾患および炎症性疾患の治療有効性の改善を促進し得る、Fcドメインのポリペプチド配列の変更を指す。アミノ酸改変は、アミノ酸置換、欠失および／または挿入を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸改変は、1つのアミノ酸の改変である。他の実施形態では、アミノ酸改変は、複数の（例えば2つ以上）アミノ酸の改変である。アミノ酸改変は、アミノ酸の置換、欠失および／または挿入の組み合わせを含み得る。アミノ酸改変の解説には、Fcポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の点変異（例えば、1つのヌクレオチドを別のヌクレオチドと交換）、挿入および欠失（例えば1つ以上のヌクレオチドの付加および／または除去）などの、遺伝的（すなわち、DNAおよびRNA）変更が含まれる。

10

【0190】

特定の実施形態では、Fc構築体内またはFc抗原結合ドメイン構築体内の少なくとも1つ（例えば、少なくとも1、2または3つ）のFcドメイン単量体がアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。いくつかの事例では、少なくとも1つのFcドメイン単量体が、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または20以下）のアミノ酸改変（例えば、置換）を含む。

【0191】

本明細書で使用される場合、「パーセント（％）同一性」という用語は、候補配列、例えば本明細書に記載のFc抗原結合ドメイン構築体中のFcドメイン単量体の配列のアミノ酸（または核酸）残基であって、配列を整列させて、必要であれば最大のパーセント同一性を達成するようにしてギャップを導入した後で（すなわち、最適なアラインメントのために候補配列および参照配列の一方または両方においてギャップを導入することが可能であり、比較目的のために非相同の配列は無視することが可能である）、野生型のFcドメイン単量体の配列等の参照配列のアミノ酸（または核酸）残基に対して一致している、候補配列のアミノ酸（または核酸）残基の百分率を指すものである。パーセント同一性の決定のためのアラインメントは、この分野の技術の範囲内である様々な方法で、例えば、BLAST、ALIGNまたはMegalign（DNASTAR）ソフトウェア等の公に利用可能であるコンピュータソフトウェアを用いて達成することが可能である。当業者は、比較している配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するのに必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメント測定用の適切なパラメータを決定することが可能である。いくつかの実施形態では、所与の参照配列との、該参照配列でのまたは該参照配列に対する、所与の候補配列のパーセントアミノ酸（または核酸）配列同一性（あるいは、所与の参照配列との、該参照配列でのまたは該参照配列に対する、特定のパーセントアミノ酸（または核酸）配列同一性を有するまたは含む、所与の候補配列と表すことがある）は、以下のとおり計算される：

20

30

$$100 \times (\text{分数である } A/B)$$

式中、Aは候補配列および参照配列のアラインメント内で同一として採点されたアミノ酸（または核酸）残基の数であり、Bは参照配列内のアミノ酸（または核酸）残基の総数である。候補配列の長さが参照配列の長さとは等しくない場合のいくつかの実施形態では、参照配列に対する候補配列のパーセントアミノ酸（または核酸）配列同一性は、候補配列に対する参照配列のパーセントアミノ酸（または核酸）配列同一性と等しくないはずである。

40

【0192】

特定の実施形態では、候補配列との比較のために整列させた参照配列は、候補配列の全長または候補配列の連続したアミノ酸（または核酸）残基の選択された部分にわたって、候補配列が50％～100％の同一性（例えば、50％～100％、60％～100％、70％～100％、80％～100％、90％～100％、92％～100％、95％～100％、97％～100％、99％～100％、または99.5％～100％の同一性

50

）を呈することを示し得る。比較目的のために整列させた候補配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、例えば、少なくとも40%、例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、または100%である。候補配列内のある位置が参照配列内の対応する位置と同じアミノ酸（または核酸）残基によって占有されている場合、それらの分子はその位置で同一である。

【0193】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFc構築体（例えば、3つのFcドメインを有するFc抗原結合ドメイン構築体）中のFcドメイン単量体は、野生型のFcドメイン単量体の配列（配列番号42）と、少なくとも95%同一（少なくとも97%、99%または99.5%同一）である配列を有することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFc構築体（例えば、3つのFcドメインを有するFc抗原結合ドメイン構築体）中のFcドメイン単量体は、配列番号44、46、48、および50～53のうちのいずれか1つの配列と少なくとも95%同一（少なくとも97%、99%、または99.5%同一）の配列を有し得る。特定の実施形態では、Fc構築体中のFcドメイン単量体は、配列番号48、52および53の配列に対し、少なくとも95%同一（少なくとも97%、99%、または99.5%同一）である配列を有することができる。

【0194】

いくつかの実施形態では、2つのFcドメイン単量体間のスペーサーは、本明細書にさらに記載される配列番号1～36（例えば、配列番号17、18、26、および27）のうちのいずれか1つの配列と、少なくとも75%同一（少なくとも75%、77%、79%、81%、83%、85%、87%、89%、91%、93%、95%、97%、99%、99.5%または100%同一）である配列を有し得る。

【0195】

本明細書で使用される場合、「宿主細胞」という用語は、タンパク質をそれらの対応する核酸から発現するのに必要であるような、例えばオルガネラである、必要な細胞成分を含むビヒクルを指す。核酸は典型的に、この技術分野で既知の従来の技術（形質転換、トランスフェクション、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、直接の微量注入等）によって宿主細胞内に導入されることが可能である核酸ベクター中に含まれる。宿主細胞は、例えば細菌細胞である原核細胞、または、例えば哺乳動物細胞（例えばCHO細胞）である真核細胞とすることができる。本明細書において記載される場合、宿主細胞は、所望のドメインをコードするポリペプチドを1つ以上発現させるために使用され、それらポリペプチドはその後組み合わされて、所望のFc抗原結合ドメイン構築体を形成させることができる。

【0196】

本明細書で使用される場合、「薬学的組成物」という用語は、活性成分のみならず、活性成分を投与方法に好適であるようにさせることが可能である、1つ以上の賦形剤および希釈剤を含有する薬用製剤または薬学的製剤を指す。本開示の薬学的組成物は、Fc抗原結合ドメイン構築体と適合可能な薬剂的に許容される成分を含む。該薬学的組成物は典型的に、静脈投与または皮下投与のために水性形態である。

【0197】

本明細書で使用される場合、ポリペプチドまたはFc構築体の「実質的に均質な群」は、組成物（例えば、細胞培養培地または薬学的組成物）中のポリペプチドまたはFc構築体のうちの少なくとも50%が、非還元SDSゲル電気泳動またはサイズ排除クロマトグラフィーにより決定された場合に、同数のFcドメインを有する群である。ポリペプチド、またはFc構築体の実質的に均質な群は、精製前、または、プロテインAもしくはプロテインG精製後、または、任意のFabもしくはFc特異的なアフィニティークロマトグラフィー単独の後で、得ることができる。様々な実施形態では、組成物中のポリペプチドまたはFc構築体のうちの少なくとも55%、60%、65%、70%、75%、80%または85%が、同数のFcドメインを有する。他の実施形態では、組成物中のポリペプチドのまたはFc構築体のうちの最大85%、90%、92%または95%が、同数のF

cドメインを有する。

【0198】

本明細書で使用される場合、「薬剂的に許容される担体」という用語は、薬学的組成物中の賦形剤または希釈剤を指す。薬学的に許容される担体は、製剤の他の成分と適合可能でなければならない、そしてレシピエントに対し有害であってはならない。本開示において、薬剂的に許容される担体は、Fc抗原結合ドメイン構築体に対し、十分な薬剂的安定性を与えなければならない。キャリアの性質は、投与形態によって異なる。例えば、経口投与では、固形キャリアが好ましく、静脈内投与では概して、水溶液キャリア（例えば、WFIおよび／または緩衝液）が用いられる。

【0199】

本明細書で使用される場合、「治療効果量」は、例えば薬剤投与量である、対象もしくは患者において所望の生物学的な効果の誘導に、または、本明細書に記載の状態または障害を有する患者の治療に有効である量を指す。本明細書においては、「治療効果量」が、単回投与または任意の投薬もしくは経路での摂取、単独でまたは他の治療薬剤と組み合わせての摂取のいずれでも、所望の治療効果をもたらす量として解釈できるということも理解されたい。

【0200】

本明細書で使用される場合、断片という用語、および部分という用語は、相互交換可能に使用され得る。

【図面の簡単な説明】

【0201】

【図1】2つのFcドメインとCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体1）の説明図である。各Fcドメインは、2つのFcドメイン単量体の二量体である。Fcドメイン単量体のうちの2つ（106および108）がそのC_H3抗体定常ドメイン内に突起を含有する一方で、他の2つのFcドメイン単量体（112および114）は、そのC_H3抗体定常ドメイン内の隣接する位置に空洞を含有する。この構築体は、3つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成されている。第1のポリペプチド（102）は、2つの突起含有Fcドメイン単量体（106および108）を含有し、それらはV_Hドメインを含有するCD38結合ドメイン（110）と直列に連続してスペーサーによりN末端上で連結されている。V_L含有ドメイン（104）は、V_Hドメインに結合される。第2および第3のポリペプチド（112および114）は各々、空洞含有Fcドメイン単量体を含有する。

【図2】3つのFcドメインとCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体2）の説明図である。この構築体は、4つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成されている。第1のポリペプチド（202）は、3つの突起含有Fcドメイン（206、208、および210）を含有し、それらはV_Hドメインを含有するCD38結合ドメイン（212）と直列に連続してスペーサーによりN末端上で連結されている。V_L含有ドメイン（204）は、V_Hドメインに結合される。第2、第3、および第4のポリペプチド（214、216、および218）は各々、空洞含有Fcドメイン単量体を含有する。

【図3】2つのFcドメインと2つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体3）の説明図である。この構築体は、3つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成されている。第1のポリペプチド（302）は、直列に連続してスペーサーによって連結された2つの突起含有Fcドメイン単量体（304および306）を含有する。第2および第3のポリペプチド（320および322）の各々は、空洞含有Fcドメイン単量体（310および314）を含有し、それらはV_Hドメインを含有するCD38結合ドメイン（316および318）と直列にN末端上で結合されている。V_L含有ドメイン（308および312）は、各V_Hドメインに結合される。

【図4】3つのFcドメインと3つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体4）の説明図である。この構築体は、4つのFcドメイン単量体含

10

20

30

40

50

有ポリペプチドから形成されている。第1のポリペプチド(402)は、直列に連続してスペーサーによって連結された3つの突起含有Fcドメイン単量体(404、406、および408)を含有する。第2、第3、および第4のポリペプチド(428、430、および432)の各々は、空洞含有Fcドメイン単量体(426、420、および414)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(422、416、および410)と直列にN末端上で結合されている。 V_L 含有ドメイン(424、418、および412)は、各 V_H ドメインに結合される。

【図5】2つのFcドメインと3つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体(構築体5)の説明図である。この構築体は、3つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成されている。第1のポリペプチド(502)は、2つの突起含有Fcドメイン単量体(508および506)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(510)と直列に連続してスペーサーによりN末端で連結されている。第2および第3のポリペプチド(524および526)の各々は、空洞含有Fcドメイン単量体(516および522)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(512および518)と直列にN末端上で結合されている。 V_L 含有ドメイン(504、514、および520)は、各 V_H ドメインに結合される。

【図6】3つのFcドメインと4つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体(構築体6)の説明図である。この構築体は、4つのFc単量体含有ポリペプチドから形成されている。第1のポリペプチド(602)は、3つの突起含有Fcドメイン単量体(606、608、および610)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(612)と直列に連続してスペーサーによりN末端で連結されている。第2、第3、および第4のポリペプチド(632、634、および636)の各々は、空洞含有Fcドメイン単量体(618、624、および630)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(616、622、および628)と直列にN末端上で結合されている。 V_L 含有ドメイン(604、616、622、および628)は、各 V_H ドメインに結合される。

【図7】3つのFcドメインと2つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体(構築体7)の説明図である。このFc抗原結合ドメイン構築体は、2つのFcドメイン単量体(706および718)の二量体を含み、これらのFcドメイン単量体はいずれもWT配列とは異なる電荷のアミノ酸をそれらの C_H3-C_H3 界面に含有し、これらの2つのFcドメイン単量体間で好ましい静電相互作用を促進する。この構築体は、4つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成されている。2つのポリペプチド(702および724)は、各々、突起含有Fcドメイン単量体(710および720)を含有し、それらはWT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面に含有するFcドメイン単量体(706および718)、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(712および714)と直列に連続してスペーサーによりN末端上で連結されている。第3および第4のポリペプチド(708および722)は各々、空洞含有Fcドメイン単量体を含有する。 V_L 含有ドメイン(704および716)は、各 V_H ドメインに結合される。

【図8】3つのFcドメインと2つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体(構築体8)の説明図である。構築体は、4つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド(802および828)は各々、WT配列とは異なる電荷のアミノ酸をそれらの C_H3-C_H3 界面に含有するFcドメイン単量体(810および816)に直列に連続してスペーサーによって連結された突起含有Fcドメイン単量体(814および820)を含有する。第3および第4のポリペプチド(804および826)は、各々、空洞含有Fcドメイン単量体(808および824)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(812および818)と直列にN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン(806および822)は、各 V_H ドメインに結合される。

【図9】3つのFcドメインと4つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ド

10

20

30

40

50

メイン構築体（構築体 9）の説明図である。構築体は、4つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド（902および936）は、各々、突起含有Fcドメイン単量体（918および928）を含有し、それらはWT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体（910および924）、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（908および920）と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3および第4のポリペプチド（904および934）は、空洞含有Fcドメイン単量体（916および932）を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（912および926）と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン（906、914、922、および930）は、各 V_H ドメインに結合される。

【図10】5つのFcドメインと2つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体10）の説明図である。構築体は、6つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド（1002および1032）は、各々、突起含有Fcドメイン単量体（1016および1030）を含有し、それらは別の突起含有Fcドメイン単量体（1014および1028）、WT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体（1008および1022）、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1006および1018）と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3、第4、第5、および第6のポリペプチド（1012、1010、1026、および1024）は各々、空洞含有Fcドメイン単量体を含有する。 V_L 含有ドメイン（1004および1020）は、各 V_H ドメインに結合される。

【図11】5つのFcドメインと4つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体11）の説明図である。構築体は、6つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド（1102および1148）は、別の突起含有Fcドメイン単量体（1120および1130）と、WT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 界面に含有するFcドメイン単量体（1124および1126）とに直列に連続してスパーサーによって連結された突起含有Fcドメイン単量体（1118および1132）を含有する。第3、第4、第5、および第6のポリペプチド（1106、1104、1144、および1146）は、各々、空洞含有Fcドメイン単量体（1116、1110、1134、および1140）を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1112、1122、1138、および1128）と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン（1108、1114、1135、および1142）は、各 V_H ドメインに結合される。

【図12】5つのFcドメインと6つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体12）の説明図である。構築体は、6つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド（1202および1256）は、突起含有Fcドメイン単量体（1224および1230）を含有し、それらは別の突起含有Fcドメイン単量体（1226および1228）、WT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体（1210および1244）、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1250および1248）と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3、第4、第5、および第6のポリペプチド（1206、1204、1254、および1252）は、各々、空洞含有Fcドメイン単量体（1222、1216、1232、および1238）を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1218、1212、1236、および1242）と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン（1208、1214、1220、1234、1240、および1246）は、各 V_H ドメインに結合される。

【図13】3つのFcドメインと2つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体13）の説明図である。構築体は、4つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド（1302および1324）は、W

10

20

30

40

50

T配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体（1308および1318）を含有し、それらは突起含有Fcドメイン単量体（1312および1316）、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1310および1314）と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3および第4のポリペプチド（1306および1320）は、空洞含有Fcドメイン単量体を含有する。 V_L 含有ドメイン（1304および1322）は、各 V_H ドメインに結合される。

【図14】3つのFcドメインと2つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体14）の説明図である。構築体は、4つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド（1404および1426）は、突起含有Fcドメイン単量体（1414および1418）に直列に連続してスパーサーによって連結されたWT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 界面に含有するFcドメイン単量体（1308および1318）を含有する。第3および第4のポリペプチド（1402および1428）は、各々、空洞含有Fcドメイン単量体（1410および1422）を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1408および1416）と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン（1406および1424）は、各 V_H ドメインに結合される。

【図15】3つのFcドメインと4つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体15）の説明図である。構築体は、4つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド（1502および1536）は、WT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体（1512および1524）を含有し、それらは突起含有Fcドメイン単量体（1518および1522）、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1514および1532）と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3および第4のポリペプチド（1504および1534）は、空洞含有Fcドメイン単量体（1510および1526）を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1508および1530）と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン（1506、1516、1520、および1528）は、各 V_H ドメインに結合される。

【図16】5つのFcドメインと2つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体16）の説明図である。構築体は、6つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド（1602および1632）は、WT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体（1610および1624）を含有し、それらは突起含有Fcドメイン単量体（1612および1622）、第2の突起含有Fcドメイン単量体（1614および1620）、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1616および1618）と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3、第4、第5、および第6のポリペプチド（1608、1606、1626、および1628）は各々、空洞含有Fcドメイン単量体を含有する。 V_L 含有ドメイン（1604および1630）は、各 V_H ドメインに結合される。

【図17】5つのFcドメインと4つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体（構築体17）の説明図である。この構築体は、6つのFc単量体含有ポリペプチドから形成されている。2つのポリペプチド（1702および1748）は、N末端に、突起含有Fcドメイン単量体（1720および1730）と、第2の突起含有Fcドメイン単量体（1722および1728）とに直列に連続してスパーサーによって連結されたWT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 界面に含有するFcドメイン単量体（1718および1732）を含有する。第3、第4、第5、および第6のポリペプチド（1706、1704、1746、および1744）は、空洞含有Fcドメイン単量体（1716、1710、1734、および1740）を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン（1712、1724、1738、および1726）と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン（1708、1714、

10

20

30

40

50

1736、および1742)は、各 V_H ドメインに結合される。

【図18】5つのFcドメインと6つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体(構築体18)の説明図である。構築体は、6つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド(1802および1856)は、WT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体(1818および1838)を含有し、それらは突起含有Fcドメイン単量体(1820および1836)、第2の突起含有Fcドメイン単量体(1822および1834)、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(1826および1830)と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3、第4、第5、および第6のポリペプチド(1806、1804、1854、および1852)は、各々、空洞含有Fcドメイン単量体(1816、1810、1840、および1846)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(1812、1828、1844、および1850)と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン(1808、1814、1824、1832、1842、および1848)は、各 V_H ドメインに結合される。

10

【図19】5つのFcドメインと2つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体(構築体19)の説明図である。構築体は、6つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド(1902および1932)は、突起含有Fcドメイン単量体(1912および1930)を含有し、それらはWT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体(1908および1926)、突起含有Fcドメイン単量体(1916および1918)、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(1914および1920)と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3および第4のポリペプチド(1910および1928)は、空洞含有Fcドメイン単量体を含有し、第5および第6のポリペプチド(1906および1924)は、空洞含有Fcドメイン単量体を含有する。 V_L 含有ドメイン(1904および1922)は、各 V_H ドメインに結合される。

20

【図20】5つのFcドメインと4つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体(構築体20)の説明図である。構築体は、6つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド(2002および2048)は、N末端に、WT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 界面に含有するFcドメイン単量体(2012および2030)と、突起含有Fcドメイン単量体(2040および2038)とに直列に連続してスパーサーによって連結された突起含有Fcドメイン単量体(2020および2022)を含有する。第3、第4、第5、および第6のポリペプチド(2006、2004、2046、および2044)は、各々、空洞含有Fcドメイン単量体(2018、2010、2024、および2032)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(2014、2042、2028、および2036)と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン(2008、2016、2026、および2034)は、各 V_H ドメインに結合される。

30

【図21】5つのFcドメインと6つのCD38結合ドメインとを含有するFc抗原結合ドメイン構築体(構築体21)の説明図である。構築体は、6つのFcドメイン単量体含有ポリペプチドから形成される。2つのポリペプチド(2102および2156)は、突起含有Fcドメイン単量体(2120および2122)を含有し、それらはWT配列とは異なる電荷のアミノ酸を C_H3-C_H3 の接合面で含有するFcドメイン単量体(2112および2130)、別の突起含有Fcドメイン単量体(2144および2142)、および V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(2148および2138)と直列に連続してスパーサーによりN末端で連結されている。第3、第4、第5、および第6のポリペプチド(2106、2104、2154、および2152)は、各々、空洞含有Fcドメイン単量体(2118、2110、2124、および2132)を含有し、それらは V_H ドメインを含有するCD38結合ドメイン(2114、2150、2128、および2136)と直列に連続してN末端で結合されている。 V_L 含有ドメイン(2108、2

40

50

116、2126、2134、2140、および2146)は、各V_Hドメインに結合される。

【図22】B細胞を標的とする様々な抗CD20構築体を用いたCDCアッセイ、ADCアッセイ、およびADCCアッセイの結果を示す3つのグラフである。第1のグラフは、S3Y Fc抗原結合ドメイン構築体がCDCを媒介し得ることを示す。中央のグラフは、SAI Fc抗原結合ドメイン構築体およびS3Y Fc抗原結合ドメイン構築体の両方が、ADCP FcγRIIaレポーターアッセイにおいて100倍超増強された効力を呈することを示す。第3のグラフは、SAI Fc抗原結合ドメイン構築体およびS3Y Fc抗原結合ドメイン構築体が、フコシル化mAbと比較して増強されたADCC活性および脱フコシル化mAbと同様の活性を呈することを示す。

10

【図23】CD38結合ドメインがFc構築体のFcドメインに結合され得る3つの例示的な方法の概略図である。パネルAは、CD38結合ドメインの重鎖構成要素が、Fc鎖の融合タンパク質として発現され得ることと、軽鎖構成要素が、別個のポリペプチドとして発現され得ることを示す。パネルBは、長鎖Fcの融合タンパク質として発現されるscFvを示す。パネルCは、別個に発現され、外因的に付加され、化学結合によりFc抗原結合ドメイン構築体に結合された重鎖構成要素および軽鎖構成要素を示す。

【図24】図24Aは、EUナンバリングを用いるヒトIgG1のアミノ酸配列(配列番号43)を示す。ヒンジ領域は二重下線によって示され、CH2ドメインは下線がなく、そしてCH3領域は下線付きである。図24Bは、EUナンバリングを用いるヒトIgG1のアミノ酸配列(配列番号45)を示す。両端を含むE216~C220を欠いたヒンジ領域は二重下線によって示され、CH2ドメインは下線がなく、そしてCH3領域は下線付きであり、K447を欠く。図24Cは、EUナンバリングを用いるヒトIgG1のアミノ酸配列(配列番号47)を示す。ヒンジ領域は二重下線によって示され、CH2ドメインは下線がなく、そしてCH3領域は下線付きであり、そして447Kを欠く。図24Dは、EUナンバリングを用いるヒトIgG1のアミノ酸配列(配列番号42)を示す。両端を含むE216~C220を欠いたヒンジ領域は二重下線によって示され、CH2ドメインは下線がなく、そしてCH3領域は下線付きである。

20

【図25】複数の血液腫瘍細胞株の間で比較的高い、中程度の、および低い細胞表面CD38発現を示す、抗CD38抗体の用量依存性結合の分析結果を示す。生細胞表面CD38に結合する、VivoTag645で標識付けされた抗CD38抗体。細胞表面結合を、FACS分析により評価した。

30

【図26】抗CD38構築体が、ヒトCD38およびcyno CD38と交差反応するIgG1抗CD38抗体と同様の細胞結合プロファイルを示すことを示す、分析の結果を示す。(A)ヒトCD38発現Raji腫瘍細胞を、VivoTag645で標識付けされた抗体、S1A-AA-Cyno(抗Cyno CD38 mAb)、S3Y-AA-Cyno-CD38(Cyno CD38 Fabを有する構築体13)、抗CD38 mAb、S3Y-AA-CD38(抗CD38 Fabを有する構築体13)、IgGアイソタイプ対照、およびSIF1対照(Fab領域を有さないFc三量体)とともに4℃で1時間インキュベートした。細胞表面結合の程度を、フローサイトメトリーにより評価した。(B)cyno CD38を安定して発現するCHO細胞を採取し、細胞懸濁液を、VivoTag645で標識付けされた抗体、S1A-AA-Cyno(抗Cyno CD38 mAb)、S3Y-AA-Cyno CD38(抗Cyno CD38 Fabを有する構築体13)、抗CD38 mAb、S3Y-AA-CD38(抗CD38 Fabを有する構築体13)、IgGアイソタイプ対照、およびSIF1対照(Fab領域を有さないFc三量体)とともに4℃で1時間インキュベートした。細胞表面結合の程度を、フローサイトメトリーにより評価した。付記：抗Cyno CD38 mAb交差反応性抗体(S1A-AA-Cyno)およびS3Y-AA-Cynoは、ヒトCD38とcyno CD38の両方を認識する。加えて、S3Y-AA-Cyno CD38は、S1A-AA-Cyno(抗Cyno CD38 mAb)より良好に細胞表面CD38に結合する。

40

50

【図 27】D a u d i 細胞およびR a j i 細胞における抗C D 3 8 構築体によるC D C 活性の評価の結果を示す。

【図 28】ヒト全血における抗C D 3 8 構築体による腫瘍細胞致死の評価の結果を示す。抗C D 3 8 構築体13 (S 3 Y-A A-C D 3 8) は、ヒト全血において高度に強力な腫瘍細胞致死能力を示す。(A) ヒト全血におけるD a u d i-ルシフェラーゼ腫瘍細胞の致死における抗C D 3 8 m A b およびS 3 Y-A A-C D 3 8 の効果。(B) ヒト血液における腫瘍細胞の致死における抗C D 3 8 m A b およびS 3 Y-A A-C D 3 8 の効果。(A) と (B) の両方において、ルシフェリン基質を添加し、光度計上で光の放射を測定することによって、生D a u d i-ルシフェラーゼ細胞を定量化した。細胞致死%を、試験試料の発光値を自発的溶解対照 (0%の細胞溶解) (抗体添加なし) および総溶解対照 (100%の細胞溶解) と正規化することにより計算する。表は、3人の別個のヒトドナー由来の全血からの腫瘍細胞致死E C 5 0 値の比較を示す。値を、平均±S Dで表す。

【図 29】カニクイザル血液からの内在性B細胞枯渇の評価の結果を示す。(A) c y n o B細胞へのS I A-A A-C y n o (抗C y n o C D 3 8 m A b)、S 3 Y-A A-C y n o-0 1 1 (C y n o C D 3 8 F a bを有する構築体13)、I g Gアイソタイプ対照、およびS I F 1対照 (F a b領域を有さないF c三量体) の用量依存性結合。(B) S I A-A A-C y n o、S 3 Y-A A-C y n o-0 1 1 (C y n o C D 3 8 F a bを有する構築体13)、I g Gアイソタイプ対照、およびS I F 1対照 (F a b領域を有さないF c三量体) へのc y n o B細胞結合の頻度の用量依存性増加。(C) S I A-A A-C y n o、S 3 Y-A A-C y n o-0 0 1 (C y n o C D 3 8 F a bを有する構築体13)、I g Gアイソタイプ対照、およびS I F 1対照 (F a b領域を有さないF c三量体) でのB細胞枯渇の用量依存性増加。抗C D 3 8 構築体 (S 3 Y-A A-C D 3 8) 処置は、抗C D 3 8 m A b よりはるかに大きな細胞枯渇をもたらした。値を、未処置の対照群のB細胞頻度に対して正規化する。(A、B、C) これらの図のプロットされた値は、同じサル血液ドナーから生成した。

【図 30】リンパ腫皮下腫瘍モデルにおける抗C D 3 8 構築体の影響の評価の結果を示す。S C I Dマウスに、ヒトリンパ腫 (R a j i) 腫瘍細胞を皮下接種した。腫瘍細胞移植の6日後、マウスを処置群に無作為化 (各群n=10) し、0.5mLの正常なヒト血清補体 (H S C) を腹腔内に処置した。翌日 (7日目)、マウスに再びH S Cを腹腔内注射し、続いて抗C D 3 8 m A b (5.94mg/kgの単回静脈内投与量)、またはS 3 Y-A A-C D 3 8 (10mg/kgの単回静脈内投与量)、またはP B S (単回静脈内注射) を注射した。マウスに、3回目のH S Cの腹腔内注射を、8日目に行った。腫瘍増殖を、腫瘍体積測定によって日常的にモニタリングした。S 3 Y-A A-C D 3 8 群の*で標識付けされた点は、対応する処置群と比較して0.0022未満のp値を有した。

【図 31A】D a u d i 細胞におけるA D C C、A D C P、およびC D C 活性に関するS 3 Y-A A-C D 3 8 (逆三角形) および抗C D 3 8 m A b (円形) の比較の結果を示す。

【図 31B】抗C D 3 8 m A b 介在性C D C に耐性であるR a j i 腫瘍細胞に対するA D C C、A D C P (マクロファージによる貪食の代替としてレポーターを使用して測定)、およびC D C 活性に関するS 3 Y-A A-C D 3 8 (逆三角形) および抗C D 3 8 m A b (円形) の比較の結果を示す。

【図 32】S 3 Y-A A-C D 3 8 (逆三角形) および抗C D 3 8 m A b (円形) によるヒト全血からの腫瘍細胞枯渇の研究結果を示す。

【図 33】D a u d i 細胞 (左パネル、比較的高いC D 3 8 発現、ならびに比較的低いC D 5 5 およびC D 5 9 発現) およびR a j i 細胞 (右パネル、比較的低いC D 3 8 発現、ならびに比較的高いC D 5 5 およびC D 5 9 発現) における、S 3 Y-A A-C D 3 8 (逆三角形) および抗C D 3 8 m A b (円形) の補体介在性細胞傷害の研究結果を示す。

【図 34A】S 3 Y-A A-C y n o C D 3 8 (逆三角形) および抗c y n o C D 3 8 m A b (円形) のA D C C 活性 (左パネル) およびC D C 活性 (右パネル) の研究結

果を示す。

【図34B】S3Y-AA-Cyno CD38（逆三角形）および抗cyno CD38 mAb（円形）のADCC活性（左パネル）、ADCP活性（中央パネル）、およびCDC活性（右パネル）の研究結果を示す。CDC活性は、抗CD38 mAb介在性CDCに耐性であるRaji細胞を使用して測定した。

【図35】S3Y-AA-Cyno CD38（逆三角形）および抗Cyno CD38 mAb（円形）による腫瘍細胞枯渇の研究結果を示す。

【図36】インビトロ（左パネル）およびインビボ（右パネル）でのS3Y-AA-Cyno CD38（各対の第2のバー）および抗cyno CD38 mAb（各対の第1のバー）によるB細胞枯渇を比較した研究結果を示す。

【図37】インビトロでのS3Y-AA-CD38（逆三角形）および抗CD38 mAb（円形）による形質細胞枯渇を比較した研究結果を示す。多発性骨髄腫患者MM536由来の総骨髄単核細胞（BM-MNC）内の抗CD38 mAbまたはS3Y-AA-CD38のいずれかによる形質細胞枯渇パーセント。枯渇を、未処置のBM-MNCからのベースライン値と比較して、各濃度での生存可能なCD138+細胞の総数として計算した。

【図38A】FcγRIIa、FcγRIIa、および補体へのS3Y-AA-CD38の結合が、抗CD38 mAbより少なくとも100倍大きいことを示す、研究結果を示す。

【図38B】FcγRIIaへのS3Y-AA-CD38の結合を示す研究結果を示し、FcγRIIaは、500倍超強化され、ヒト補体タンパク質C1qに対するS3Y-AA-CD38-オプソニン化腫瘍細胞は、抗CD38 mAbより12倍強化される。

【発明を実施するための形態】

【0202】

詳細な説明

多くの治療用抗体は、抗体依存性細胞傷害（ADCC：antibody-dependent cytotoxicity）、抗体依存性細胞貪食（ADCP：antibody-dependent cellular phagocytosis）、および補体依存性細胞傷害（CDC：complement-dependent cytotoxicity）など、Fcドメインのエフェクター機能を介して自然免疫系の因子をリクルートすることにより機能する。いくつかの事例では、本開示は、既知の単一Fcドメインを含有する治療剤、例えば、既知の治療用抗体などのCD38結合ドメインを、少なくとも2つのFcドメインと組み合わせて、固有の生物活性を有する新規の治療剤を生み出すことを企図する。いくつかの事例では、本明細書に開示される新規治療剤は、例えば既知の治療用抗体などの既知のFcドメイン含有治療剤を越える生物活性を有する。少なくとも2つのFcドメインの存在により、エフェクター機能を強化することができ、そして例えばADCPおよび／またはCDCと組み合わせられたADCCなどの複数のエフェクター機能が活性化され、それにより治療用分子の有効性が上昇する。一貫した生物学的機能を有する生成物を生成するために、Fcドメインの数の制御は、決定的である。本開示は、Fcドメインをコードするペプチドのホモ二量体形成およびヘテロ二量体形成を制御して、限定された数のポリペプチド鎖から別個のサイズの分子を組み立てるFc改変ツールのセットを特徴とする。国際公開第WO／2015／168643号、同第WO2017／151971号、同第WO2017／205436号、および同第WO2017／205434号は、2つ以上のFcドメインを有する分子を組み立てるためのFc改変ツールおよび方法を開示しており、これらは、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。改変ツールは、製造結果を著しく改善する構造特徴（例えば、グリシンリンカー）を含む。これらの構築体の特性により、実質的に均質な薬学的組成物の効率的な生成が可能となる。薬学的組成物の安全性、有効性、均一性、および信頼性を確実にするためには、薬学的組成物においてそのような均質性があることが望ましい。薬学的組成物に高度の均質性を持たせることにより、望ましくない物質（例えば、分解産物、および／または凝集

10

20

30

40

50

産物または多量体)によって引き起こされる薬学的製品の凝集または分解の可能性も最小限に抑えられ、望ましくない物質によって引き起こされるオフターゲットおよび有害な副作用も制限される。

【0203】

本明細書で詳細に記載されるように、本発明者らは、2つのFcドメイン単量体を直列に連続して結合するためにグリシン残基のみを含むスペーサーの使用、末端リシン残基が取り除かれたポリペプチド配列の使用、およびヘテロ二量体形成選択性モジュールの2つのセットである(i)異なる逆電荷変異を有するヘテロ二量体形成選択性モジュールおよび(ii)改変された空洞および突起を有するヘテロ二量体形成選択性モジュールの使用を含むアプローチを使用して、Fc抗原結合ドメイン構築体のFcドメイン構成要素を改変することにより、組成物の均質性を改善した。

10

【0204】

本発明者らは、リンカーによって分離された複数のFc配列を含む1つの長鎖ペプチドおよび単一のFc配列を含む短鎖の複数のコピーを使用して、Fcドメインが直列に連結された一連のFc抗原結合ドメイン構築体を設計した(Fc抗原結合ドメイン構築体1~6、図1~図6)。ヘテロ二量体形成変異を各Fc配列に導入して、より短いまたはより大きい複合体の形成を最小限に抑えた所望の直列立体配置への組み立てを確実にした。任意の数のFcドメインをこの方法で直列に接続することができ、それにより、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のFcドメインを有する構築体の作製が可能となった。N個のFcドメインを有するペプチドに関しては、そのような構築体は、CD38結合ドメインがそれぞれ長ペプチド鎖、短ペプチド鎖、またはそれらの両方に導入されるかどうかに応じて、1~N+1個のCD38結合ドメインとともに調製することができる。

20

【0205】

Fc抗原結合ドメイン構築体1~6(図1~図6)において、FcドメインをこれらのFcドメイン間の単一の分岐点に連結した。これらの構築体は、リンカーによって分離された複数のFc配列を含む長鎖ペプチドの2つのコピーを含み、そこで、分岐Fc配列がホモ二量体形成変異を含み、非分岐Fcドメインがヘテロ二量体形成変異を含む。長鎖のヘテロ二量体形成変異に対して相補的な変異を有する単一のFc配列を含む短鎖の複数コピーが、多量体Fc足場を完成させるために使用される。ヘテロ二量体形成Fcドメインは、分岐FcドメインのC末端(例えば、Fc抗原結合ドメイン構築体7~12、図7~図12)、N末端(例えば、Fc抗原結合ドメイン構築体13~18、図13~図18)、またはそれらの両方(例えば、Fc抗原結合ドメイン構築体19~21、図19~図21)に連結され得る。直列の複数のFcドメインは、分岐Fcドメインのいずれかの末端に連結され得る。CD38結合ドメインは、長ペプチド鎖に導入されてもよく、その結果、組み立てられたタンパク質分子当たり2つのCD38結合ドメインが生じる。あるいは、CD38結合ドメインは、短ペプチド鎖に導入されてもよく、その結果、組み立てられたタンパク質分子当たりN-1個のCD38結合ドメインが生じ、Nは、組み立てられたタンパク質分子中のFcドメインの数である。CD38結合ドメインが、短ペプチド鎖と長ペプチド鎖の両方に導入された場合、その結果得られる組み立てられたタンパク質分子は、N+1個のCD38結合ドメインを含む。

30

40

【0206】

モノクローナル抗体(mAb)およびFcドメインに対するこれまでの改変の試みは、Fcドメイン内に変異を作製してFcγRIIIaへの結合を強化し、ひいては抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性(ADCC)応答を増強すること、およびFcドメインを脱フコシル化してFcγRIIIaへの結合を強化し、ひいてはADCC応答を増強することを含んだ。

【0207】

FcγRIIIaへの結合を強化するためにFcドメイン中に変異を有する抗体、またはFcドメインの脱フコシル化を有する抗体と比較して、本開示に開示されるFc抗原結

50

合ドメイン構築体は、予想外にも、複数のクラスのFc γ 受容体へのより強い結合と、複数の細胞傷害経路の強化された活性を特徴とする。本開示のFc抗原結合ドメイン構築体は、それらの対応するフコシル化、および脱フコシル化された親モノクローナル抗体と比較して、Fc γ RIIIaとFc γ RIIIaの両方への結合を強化させることができる（実施例46を参照）。さらに、本開示のFc抗原結合ドメイン構築体は、予想外にも、ADCC経路反応の強化に加えて、補体依存性細胞傷害（CDC）経路、および／または抗体依存性細胞貪食（ADCP）経路を介在する能力を特徴とする（実施例47を参照）。

【0208】

I. Fcドメイン単量体

Fcドメイン単量体は、ヒンジドメイン、C_H2抗体定常ドメイン、およびC_H3抗体定常ドメインの少なくとも一部分（例えば、任意のアミノ酸置換を有するヒトIgG1ヒンジ、C_H2抗体定常ドメイン、およびC_H3抗体定常ドメイン）を含む。Fcドメイン単量体は、免疫グロブリン抗体アイソタイプIgG、IgE、IgM、IgAまたはIgDのものとしてすることが可能である。Fcドメイン単量体はまた、任意の免疫グロブリン抗体アイソタイプ（例えば、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3またはIgG4）のものとしてもよい。Fcドメイン単量体はまた複合型であってもよく、例えば、ヒンジおよびIgG1からのC_H2およびIgAからのC_H3による複合型、または、ヒンジおよびIgG1からのC_H2であるがIgG3からのC_H3による複合型であってもよい。Fcドメイン単量体の二量体は、白血球表面上にある受容体である、例えばFc γ RIIIaであるFc受容体と結合することが可能なFcドメイン（本明細書でさらに規定される）である。本開示では、Fcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメインが、C_H3-C_H3抗体定常ドメインの界面におけるアミノ酸置換を含有して、それらの相互による会合を促進し得る。他の実施形態では、Fcドメイン単量体は、例えばアルブミン結合ペプチドまたは精製用ペプチドである、N末端またはC末端に付加するさらなる部分を含む。本開示では、Fcドメイン単量体は、例えばV_H、V_L、相補性決定領域（CDR）または超可変領域（HVR）である、いずれの種類の抗体可変領域も含有しない。

【0209】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFc抗原結合ドメイン構築体（例えば、3つのFcドメインを有するFc抗原結合ドメイン構築体）中のFcドメイン単量体は、配列番号42の配列に対し、少なくとも95%同一（少なくとも97%、99%、または99.5%同一）である配列を有し得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFc抗原結合ドメイン構築体（例えば、3つのFcドメインを有するFc抗原結合ドメイン構築体）中のFcドメイン単量体は、配列番号44、46、48、および50～53のうちのいずれか1つの配列と少なくとも95%同一（例えば、少なくとも97%、99%、または99.5%同一）の配列を含み得る。ある特定の実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中のFcドメイン単量体は、配列番号48、52、および53のうちのいずれか1つの配列に対し、少なくとも95%同一（少なくとも97%、99%、または99.5%同一）である配列を有することができる。

配列番号 42

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号 44

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
CTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGDSFFLVSKLTV
DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

配列番号 46

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
CTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGDSFFLVSKLTV
DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

20

配列番号 48

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

配列番号 50

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

配列番号 51

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLKSDGDSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

40

配列番号 52

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYV
 DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPP
 VLKSDGSFFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

配列番号 53

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYV
 DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPP
 VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

【0210】

I I . F c ドメイン

本明細書で規定するように、F c ドメインは、C_H 3 抗体定常ドメイン間の相互作用によって二量体形成する2つのF c ドメイン単量体を含む。F c ドメインは、F c 受容体、例えばF c -ガンマ受容体（すなわち、F c γ 受容体（F c γ R））、F c -アルファ受容体（すなわち、F c α 受容体（F c α R））、F c -イプシロン受容体（すなわち、F c ε 受容体（F c ε R））および／または胎児性F c 受容体（F c R_n）に結合する最小限の構造を形成する。いくつかの実施形態では、本開示のF c ドメインは、F c γ 受容体（例えば、F c γ R I（CD 64）、F c γ R I I A（CD 32）、F c γ R I I B（CD 32）、F c γ R I I I A（CD 16 a）、F c γ R I I I B（CD 16 b））および／またはF c γ R I Vおよび／または胎児性F c 受容体（F c R_n）に結合する。

20

【0211】

I I I . C D 3 8 結合ドメイン

抗原結合ドメインは、標的分子に特異的に結合する1つ以上のペプチドまたはポリペプチドを含む。C D 3 8 結合ドメインは、抗体のC D 3 8 結合ドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、C D 3 8 結合ドメインは、抗体または抗体構築体の断片、例えば、標的抗原に結合する抗体の最小部分であり得る。C D 3 8 結合ドメインはまた、フィブロネクチン系の結合タンパク質（例えば、F N 3 モノボディ）などの標的に特異的に結合する合成的に改変されたペプチドであり得る。

30

【0212】

断片の抗原結合（F a b）断片は、標的抗原に結合する抗体上の領域である。この領域は、重鎖および軽鎖それぞれの1つの定常ドメインと1つの可変ドメインから構成される。F a b 断片は、V_H、V_L、C_H 1 およびC_L ドメインを含む。可変ドメインのV_H およびV_L はそれぞれ、単量体のアミノ末端で、相補性決定領域（CDR）が3つの1セットを含有する。F a b 断片は、免疫グロブリン抗体アイソタイプのI g G、I g E、I g M、I g A またはI g D のものであり得る。またF a b 断片単量体は、任意の免疫グロブリン抗体アイソタイプ（例えば、I g G 1、I g G 2 a、I g G 2 b、I g G 3 またはI g G 4）のものであってもよい。いくつかの実施形態では、F a b 断片は、免疫グロブリンのプロテアーゼ処置（例えばペプシン）後の第2の同一F a b 断片に共有結合的に付加され、F（a b'）₂ 断片を形成してもよい。いくつかの実施形態では、F a b は、例えばドメイン間のリンカーを用いて融合される可変ドメインと定常ドメインの両方を含む単一ポリペプチドとして発現されてもよい。

40

【0213】

いくつかの実施形態では、F a b 断片の一部のみがC D 3 8 結合ドメインとして使用される場合がある。いくつかの実施形態では、F a b の軽鎖構成要素（V_L + C_L）のみ、またはF a b の重鎖構成要素（V_H + C_H）のみが使用される場合がある。いくつかの実施形態では、F a b 可変領域のV_H 鎖とV_L 鎖の融合タンパク質である一本鎖可変断片（

50

s c F v) が使用される場合がある。他の実施形態では、相補的な軽鎖ポリペプチドと一緒に C D 3 8 結合領域の対を形成する直列の F d セグメント ($V_H - C_{H1} - V_H - C_{H1}$) の対を含む直線状抗体が使用され得る。

【0214】

いくつかの実施形態では、本開示の C D 3 8 結合ドメインは、表 1 に列挙される標的または抗原に対して、以下の表 1 にさらに詳細に提示されるように、列挙される標的または抗原に関して表 1 に列挙される C D R 配列のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたは 6 つすべてを含む。

(表 1) C D R 配列

抗体名	CDR1-IMGT (重鎖)	CDR2-IMGT (重鎖)	CDR3-IMGT (重鎖)	CDR1-IMGT (軽鎖)	CDR2-IMGT (軽鎖)	CDR3-IMGT (軽鎖)
抗 CD38	GFTFNSF A (配列番号 85)	ISGSGGG T (配列番号 115)	AKDKILWF GEPVFDY (配列番号 148)	QSVSSY (配列番号 180)	DAS	QQRSNW PPT (配列番号 211)
イサツキシマブ	GYTFTDY W (配列番号 86)	IYPGDGD T (配列番号 109)	ARGDYYG SNSLDY (配列番号 149)	QDVSTV (配列番号 181)	SAS	QQHYSP YT (配列番号 212)
MOR202 (Kabat 番号付け)	SYVMN	GISGDPS NTYYADS VKG	DLPLVYT GFAY	SGDNLRH YYVY	GDSKRPS	QTYTGGA S

10

20

【0215】

(表 2) V H および V L 配列

抗体名	VH	VL
イサツキシマブ	(VH + CH1) QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCK ASGYTFTDYWMQWVKRPGQGL EWIGTIYPGDGDTGYAQKFQGKAT LTADKSSKTVYMHLSLASEDSAV YYCARGDYYGSNSLDYWGGTS VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYN 300 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK	DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCK ASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRRL IYSASYRYIGVPDRFTGSGAGTDF TFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSP YTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C
MOR202	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSSYYMNWVRQAPGKLEWVSGISG DPSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGF YWGQGLTVTV	DIELTPPSVSVAPGQTARISCSGDNL RHYVYVYQQKPGQAPVLIYGDSCR SGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDE ADYYCQTYTGASLVFGGGTKLTVLGQ

30

40

【0216】

F c 抗原結合ドメイン構築体 1 の C D 3 8 結合ドメイン (図 1 の 110 / 104) は、表 1 に列挙される抗体のいずれか 1 つの 3 つの重鎖および 3 つの軽鎖の C D R 配列を含み得る。

50

【0217】

Fc抗原結合ドメイン構築体2のCD38結合ドメイン（図2の212／204）は、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0218】

Fc抗原結合ドメイン構築体3のCD38結合ドメイン（図3の308／316および312／318）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0219】

Fc抗原結合ドメイン構築体4のCD38結合ドメイン（図4の410／412、416／418、および422／424）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

10

【0220】

Fc抗原結合ドメイン構築体5のCD38結合ドメイン（図5の510／504、512／514、および518／520）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0221】

Fc抗原結合ドメイン構築体6のCD38結合ドメイン（図6の612／604、614／616、620／622、および626／628）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

20

【0222】

Fc抗原結合ドメイン構築体7のCD38結合ドメイン（図7の712／714および714／716）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0223】

Fc抗原結合ドメイン構築体8のCD38結合ドメイン（図8の812／806および818／822）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0224】

Fc抗原結合ドメイン構築体9のCD38結合ドメイン（図9の908／906、920／922、912／914、および926／930）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

30

【0225】

Fc抗原結合ドメイン構築体10のCD38結合ドメイン（図10の1006／1004および1018／1020）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0226】

Fc抗原結合ドメイン構築体11のCD38結合ドメイン（図11の1112／1114、1122／1108、1128／1142、および1138／1136）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

40

【0227】

Fc抗原結合ドメイン構築体12のCD38結合ドメイン（図12の1218／1220、1212／1214、1250／1208、1248／1246、1242／1240、および1236／1234）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0228】

Fc抗原結合ドメイン構築体13のCD38結合ドメイン（図13の1310／1304および1314／1322）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

50

【0229】

Fc抗原結合ドメイン構築体14のCD38結合ドメイン（図14の1408／1406および1416／1424）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0230】

Fc抗原結合ドメイン構築体15のCD38結合ドメイン（図15の1508／1506、1514／1516、1532／1520、および1530／1528）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0231】

Fc抗原結合ドメイン構築体16のCD38結合ドメイン（図16の1616／1604および1618／1630）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0232】

Fc抗原結合ドメイン構築体17のCD38結合ドメイン（図17の1712／1714、1724／1708、1726／1742、および1738／1736）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0233】

Fc抗原結合ドメイン構築体18のCD38結合ドメイン（図18の1812／1814、1828／1808、1826／1824、1830／1832、1850／1848、および1844／1842）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0234】

Fc抗原結合ドメイン構築体19のCD38結合ドメイン（図19の1914／1904および1920／1922）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0235】

Fc抗原結合ドメイン構築体20のCD38結合ドメイン（図20の2014／2016、2042／2008、2036／2034、および2028／2026）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0236】

Fc抗原結合ドメイン構築体21のCD38結合ドメイン（図21の2114／2116、2150／2108、2148／2146、2138／2140、2136／2134、および2128／2126）は各々、表1に列挙される抗体のいずれか1つの3つの重鎖および3つの軽鎖のCDR配列を含み得る。

【0237】

I V．二量体形成選択性モジュール

本開示において、二量体形成選択性モジュールは、2つのFcドメイン単量体の好ましい対形成を促進してFcドメインを形成する、Fcドメイン単量体内の構成要素または選択アミノ酸を含む。詳細には、二量体形成選択性モジュールは、2つのFcドメイン単量体の相互作用するC_H3抗体定常ドメイン間の界面に位置するアミノ酸置換を含む、Fcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメインの部分である。二量体形成選択性モジュールにおいては、アミノ酸置換が、それら置換に選択されたアミノ酸の適合性の結果として、2つのC_H3抗体定常ドメインの好ましい二量体形成を行う。好ましいFcドメインの最終形態は、二量体形成選択性モジュールをもたないFcドメイン単量体で、または二量体形成選択性モジュール内に適合しないアミノ酸置換をもつFcドメイン単量体で形成される他のFcドメインに対して選択的である。この種のアミノ酸置換は、Quick Change（登録商標）Mutagenesis等のこの技術分野で周知の従来の分子クローニン

10

20

30

40

50

グ技術を用いて行うことが可能である。

【0238】

いくつかの実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、 C_H3 抗体定常ドメイン内に（本明細書でさらに説明される「ホール」の）改変された空洞を含む。他の実施形態では、二量体形成選択性モジュールは、 C_H3 抗体定常ドメイン内に改変された突起（または本明細書でさらに説明される「ノブ」）を含む。 Fc ドメインを選択的に形成するために、適合性の二量体形成選択性モジュールを有する2つの Fc ドメイン単量体（例えば、一方が改変された空洞を含む C_H3 抗体定常ドメインであり、他方が改変された突起を含む C_H3 抗体定常ドメインである）とを組み合わせ、 Fc ドメイン単量体の空洞内突起（「ノブアンドホール」）対を形成する。改変された突起および改変された空洞は、ヘテロ二量体形成選択性モジュールの例であり、それらは、適合するヘテロ二量体形成選択性モジュールを有する2つの Fc ドメイン単量体の好ましいヘテロ二量体形成を促進するために、 Fc ドメイン単量体の C_H3 抗体定常ドメイン内に作製することが可能である。表3は、好適な変異を列記する。

10

【0239】

他の実施形態では、ヘテロ二量体形成は、正に荷電したアミノ酸置換を含む二量体形成選択性モジュールを有する Fc ドメイン単量体および負に荷電したアミノ酸置換を含む二量体形成選択性モジュールを有する Fc ドメイン単量体の使用によって達成され、これらが選択的に組み合わせ、荷電したアミノ酸の好ましい静電ステアリング（本明細書でさらに説明される）により Fc ドメインを形成することができる。いくつかの実施形態では、 Fc ドメイン単量体は、以下の正に荷電したアミノ酸置換および負に荷電したアミノ酸置換のうちの1つを含み得る。K392D、K392E、D399K、K409D、K409E、K439DおよびK439E。一実施例では、正電荷をもつアミノ酸置換、例えばD356KまたはE357Kを含有する Fc ドメイン単量体と、負電荷をもつアミノ酸置換、例えばK370DまたはK370Eを含有する Fc ドメイン単量体とが選択的に結合して、電荷をもつアミノ酸の好ましい静電的ステアリングを経て Fc ドメインを形成する。別の実施例では、E357Kを含有する Fc ドメイン単量体と、K370Dを含有する Fc ドメイン単量体とが選択的に結合して、電荷をもつアミノ酸の好ましい静電的ステアリングを経て Fc ドメインを形成する。いくつかの実施形態では、逆電荷のアミノ酸置換を、ヘテロ二量体形成選択性モジュールとして用い得るものであって、異なるが適合する逆電荷のアミノ酸置換を含有する2つの Fc ドメイン単量体が結合して、ヘテロ二量体 Fc ドメインを形成する。表3は、ヘテロ二量体形成を促進するための様々な逆電荷二量体形成選択性モジュールを列記する。

20

30

【0240】

ノブおよびホール変異および静電ステアリング変異以外に、ヘテロ二量体形成を促進するために用いられ得る追加のタイプの変異が存在する。これらの変異も表3に列記されている。

【0241】

他の実施形態では、2つの Fc ドメイン単量体が、 C_H3 ドメイン間の界面における電荷をもつ残基の環内の少なくとも2つの位置において、同一の逆電荷の変異を含有するホモ二量体形成選択性モジュールを含む。ホモ二量体形成選択性モジュールは、 Fc ドメイン単量体のホモ二量体形成を促進してホモ二量体 Fc ドメインを形成する、逆電荷のアミノ酸置換である。2つの Fc ドメイン単量体内の残基の2以上の相補的な対の両要素の電荷が反転していることによって、変異した Fc ドメイン単量体は同じ変異の配列の Fc ドメイン単量体に対して相補性を維持するが、こうした変異なしでは Fc ドメイン単量体に対する相補性はより小さい。一実施形態では、 Fc ドメインは、二重変異体である、K409D/D399K、K392D/D399K、E357K/K370E、D356K/K439D、K409E/D399K、K392E/D399K、E357K/K370DまたはD356K/K439Eを含む Fc 単量体を含む。別の実施形態では、 Fc ドメインは、例えばK409D/D399K/E357K/K370Eである二重変異体の任

40

50

意の対を結合した四重変異体を含むFcドメイン単量体を含む。表4Aおよび表4Bは、ホモ二量体形成を促進する様々な選択性を列記する。

【0242】

さらなる実施形態では、(i)少なくとも1つの逆電荷の変異と、(ii)少なくとも1つの改変された空洞または少なくとも1つの改変された突起とを含有するFcドメイン単量体を、(i)少なくとも1つの逆電荷の変異と、(ii)少なくとも1つの改変された突起または少なくとも1つの改変された空洞とを含有する他のFcドメイン単量体と選択的に結合して、Fcドメインを形成することができる。例えば、反転した電荷の変異K370Dと、改変された空洞Y349C、T366S、L368AおよびY407Vとを含有するFcドメイン単量体と、反転した電荷の変異E357Kと、改変された突起S354CおよびT366Wとを含有する他のFcドメイン単量体とを選択的に結合して、Fcドメインを形成する。

10

【0243】

こうしたFcドメインの形成は、C_H3抗体定常ドメイン内の適合するアミノ酸置換によって促される。C_H3-C_H3界面において、2つの二量体形成選択性モジュールが適合しないアミノ酸置換を含有する場合、例えば、改変された空洞を両方が含有する、改変された突起を両方が含有する、または、同じ電荷をもつアミノ酸を両方が含有する場合は、ヘテロ二量体Fcドメインの形成は促されない。

【0244】

さらに、画成されたFcドメイン単量体によるFcドメインの形成を促進するために用いる他の方法には、ヘテロ二量体の形成を可能にする、ロイシンジッパーの単量体 α -ヘリックスのFcドメイン単量体それぞれに対するC末端融合を含むLUZ-Yアプローチ(米国特許出願公開第WO2011034605号)のみならず、IgAおよびIgG C_H3配列の交互セグメントをそれぞれが含むヘテロ二量体のFcドメイン単量体によりFcドメインを生成する、ストランド交換改変ドメイン(SEED(strand-exchange engineered domain))体のアプローチ(Davis et al., Protein Eng Des Sel. 23:195-202, 2010)が含まれるが、これらに限定されない。

20

【0245】

V. 改変された空洞および改変された突起

30

改変された空洞および改変された突起の使用(すなわち、「ノブイントゥホール(knob-into-hole)」ストラテジー)は、Carterおよびその協同研究者(Ridgway et al., Protein Eng. 9:617-612, 1996、Atwell et al., J Mol Biol. 270:26-35, 1997、Merchant et al., Nat Biotechnol. 16:677-681, 1998)によって記述されている。ノブとホールとの相互作用は、ヘテロ二量体形成を支持するが、一方、ノブ間およびホール間の相互作用は、立体的な不一致および好ましい相互作用の損失に起因してホモ二量体形成を妨げる。「ノブイントゥホール」技術は、米国特許第5,731,168号にも開示されている。

【0246】

40

本開示では、改変された空洞および改変された突起は、本明細書に記載のFc抗原結合ドメイン構築体の調製に使用される。改変された空洞は、あるタンパク質中の本来のアミノ酸が、より低分子量の側鎖をもつ異なるアミノ酸で置換されたときに形成される空隙である。改変された突起は、あるタンパク質中の本来のアミノ酸が、より高分子量の側鎖をもつ異なるアミノ酸で置換されたときに形成される突起である。詳細には、置換されようとするアミノ酸は、Fcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメイン内にあり、2つのFcドメイン単量体の二量体形成に関与する。いくつかの実施形態では、一方のC_H3抗体定常ドメイン内の改変された空洞は、もう一方のC_H3抗体定常ドメイン内の改変された突起を収納するように形成されるため、両C_H3抗体定常ドメインが、2つのFcドメイン単量体の二量体形成を促進するまたは支持する二量体形成選択性モジュール(例えば、ヘ

50

テロ二量体形成選択性モジュール) (上記に記載した) として機能する。他の実施形態では、一方の C_H 3 抗体定常ドメイン内の改変された空洞は、もう一方の C_H 3 抗体定常ドメイン内の本来のアミノ酸をより良好に収納するように形成されている。さらに他の実施形態では、一方の C_H 3 抗体定常ドメイン内の改変された突起は、もう一方の C_H 3 抗体定常ドメイン内の本来のアミノ酸とのさらなる相互作用を形成するように形成されている。

【0247】

改変された空洞は、チロシンまたはトリプトファン等のより長い側鎖を含有するアミノ酸を、アラニン、バリンまたはトレオニン等のより短い側鎖を含有するアミノ酸で置換することによって構築することが可能である。詳細には、一部の二量体形成選択性モジュール (例えば、ヘテロ二量体形成選択性モジュール) (上記でさらに記載した) は、C_H 3 抗体定常ドメイン内に Y 4 0 7 V 変異等の改変された空洞を含有する。同様に、改変された突起は、より短い側鎖を含有するアミノ酸を、より長い側鎖を含有するアミノ酸で置換することによって構築することが可能である。詳細には、一部の二量体形成選択性モジュール (例えば、ヘテロ二量体形成選択性モジュール) (上記でさらに記載した) は、C_H 3 抗体定常ドメイン内に T 3 6 6 W 変異等の改変された突起を含有する。本開示では、改変された空洞および改変された突起はまた、ヘテロ二量体形成を促進する、C_H 3 ドメイン間のジスルフィド結合改変と組み合わせられる。一実施例では、改変された空洞 Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A および Y 4 0 7 V を含有する F c ドメイン単量体は、改変された突起 S 3 5 4 C および T 3 6 6 W を含有する他の F c ドメイン単量体と選択的に結合して、F c ドメインを形成することができる。別の実施例では、Y 3 4 9 C を追加することで改変された空洞を含有する F c ドメイン単量体と、S 3 5 4 C を追加することで改変された突起を含有する F c ドメイン単量体が選択的に組み合わせられて、F c ドメインを形成してもよい。ジスルフィド結合改変または構造的計算のいずれかと組み合わせた (H A - T F 混合)、他の改変された空洞および改変された突起を表 3 に示すが、これらに限定されない。

【0248】

C_H 3 抗体定常ドメイン内の本来のアミノ酸残基を異なるアミノ酸残基で置換することは、本来のアミノ酸残基をコードする核酸を変更することによって達成することが可能である。置換することが可能である本来のアミノ酸残基の数の上限は、界面における十分な相互作用を維持したままにすることを考えれば、C_H 3 抗体定常ドメインの界面における残基の総数である。

【0249】

改変された空洞と改変された突起を、静電的ステアリングを用いて組み合わせる

静電的ステアリングを、ノブ-イン-ホール (k n o b - i n - h o l e) 技術と組み合わせ、例えば 2 つの異なるポリペプチド中の F c ドメイン単量体間でのヘテロ二量体形成を有利にすることができる。以下にさらに詳細に記載するが、静電的ステアリングは、より高次のタンパク質分子の形成を制御する、ペプチド、タンパク質ドメインおよびタンパク質内の反対の電荷をもつアミノ酸間の有益な静電的相互作用の利用である。静電的ステアリングを使用して、ホモ二量体形成またはヘテロ二量体形成のいずれかを促進することができ、後者の場合にはノブ-イン-ホール技術と組み合わせることが有益な場合がある。ヘテロ二量体形成の場合、異なっているが、適合性のある変異を、ヘテロ二量体形成される F c ドメイン単量体の各々に導入する。ゆえに、F c ドメイン単量体を改変して、以下の正電荷をもつアミノ酸置換、および負電荷をもつアミノ酸置換のうちの 1 つを含ませることができる: D 3 5 6 K、D 3 5 6 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、D 3 9 9 K、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 4 3 9 D および K 4 3 9 E。例えば 1 つの F c ドメイン単量体、例えば空洞 (Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A および Y 4 0 7 V) を有する F c ドメイン単量体も、K 3 7 0 D 変異を含むことができ、そして他の F c ドメイン単量体、例えば突起 (S 3 5 4 C および T 3 6 6 W) を有する F c ドメイン単量体も E 3 5 7 K を含むことができる。

【0250】

より一般的には、以下の空洞変異のいずれか（または変異の組み合わせ）：Y407T、Y407A、F405A、Y407T、T394S、T394W：Y407A、T366W：T394S、T366S：L368A：Y407V：Y349C、およびS3364H：F405は、表3の静電ステアリング変異と組み合わせることができ、以下の突起変異のうちのいずれか（または変異の組み合わせ）：T366Y、T366W、T394W、F405W、T366Y：F405A、T366W：Y407A、T366W：S354C、およびY349T：T394Fは、表3の静電ステアリング変異と組み合わせることができる。

【0251】

VI. 静電的ステアリング

静電的ステアリングは、より高次のタンパク質分子の形成を制御する、ペプチド、タンパク質ドメインおよびタンパク質内の反対の電荷をもつアミノ酸間の好ましい静電的相互作用の利用である。静電的ステアリングの効果を用いて、二重特異性抗体の生成の際のヘテロ二量体形成に有利に、ホモ二量体の形成を低減するように抗体ドメインの相互作用を変える方法が、米国特許出願公開第2014-0024111号に開示されている。

【0252】

本開示では、静電的ステアリングを用いて、Fcドメイン単量体の二量体形成およびFc抗原結合ドメイン構築体の形成を制御する。特に、静電的ステアリングを用いてFcドメイン単量体の二量体形成を制御することは、 C_H3-C_H3 界面を形成する1つ以上のアミノ酸残基が、正電荷をもつかまたは負電荷をもつアミノ酸残基で置換されるため、導入された特定の電荷をもつアミノ酸に応じて、相互作用は静電的に好ましくなるかまたは好ましくないものとなる。いくつかの実施形態では、リシン、アルギニンまたはヒスチジン等、界面の正電荷をもつアミノ酸が、アスパラギン酸またはグルタミン酸等の負電荷をもつアミノ酸で置換される。他の実施形態では、界面の負電荷をもつアミノ酸が、正電荷をもつアミノ酸で置換される。電荷をもつアミノ酸は、相互作用する C_H3 抗体定常ドメインの一方または両方に導入され得る。相互作用する C_H3 抗体定常ドメインに電荷をもつアミノ酸を導入することによって、二量体形成選択性モジュール（上記においてさらに説明した）が形成されるが、それは電荷をもつアミノ酸間の相互作用の結果としての静電的ステアリング効果で制御されるとおりに、Fcドメイン単量体の二量体を選択的に形成することが可能である。

【0253】

いくつかの実施形態では、静電的ステアリング効果で制御されるとおりにFcドメイン単量体の二量体を選択的に形成することが可能である、反転した電荷を含む二量体形成選択性モジュールを形成するために、2つのFcドメイン単量体は、ヘテロ二量体形成またはホモ二量体形成を経て選択的に形成され得る。

【0254】

Fcドメイン単量体のヘテロ二量体形成

Fcドメイン単量体のヘテロ二量体形成は、表3に含まれるが、それらに限定されない電荷残基対等の2つのFcドメイン単量体に異なるが適合性の変異を導入することによって促進され得る。いくつかの実施形態では、Fcドメイン単量体は、以下の正に荷電したアミノ酸置換および負に荷電したアミノ酸置換のうちの1つを含み得る。D356K、D356R、E357K、E357R、K370D、K370E、K392D、K392E、D399K、K409D、K409E、K439DおよびK439E。一実施例では、正電荷をもつアミノ酸置換、例えばD356KまたはE357Kを含有するFcドメイン単量体と、負電荷をもつアミノ酸置換、例えばK370DまたはK370Eを含有するFcドメイン単量体とが選択的に結合して、電荷をもつアミノ酸の好ましい静電的ステアリングを経てFcドメインを形成する。別の実施例では、E357Kを含有するFcドメイン単量体と、K370Dを含有するFcドメイン単量体とが選択的に結合して、電荷をもつアミノ酸の好ましい静電的ステアリングを経てFcドメインを形成する。

【0255】

例えば、3つのFcドメインを有するFc抗原結合ドメイン構築体では、3つのFcドメインのうちの2つが、静電ステアリング効果によって促進されるように、2つのFcドメイン単量体のヘテロ二量体形成によって形成され得る。「ヘテロ二量体Fcドメイン」という用語は、2つのFcドメイン単量体のヘテロ二量体形成によって形成されるFcドメインを指し、これらの2つのFcドメイン単量体は、これらの2つのFcドメイン単量体の好ましい形成を促進する異なる逆電荷変異（ヘテロ二量体形成選択性モジュール）（例えば、表4Aおよび表4B中の変異を参照のこと）を含む。3つのFcドメイン、つまり1つのカルボキシル末端「幹」Fcドメインと、2つのアミノ末端「枝」Fcドメインとを有するFc抗原結合ドメイン構築体において、アミノ末端「枝」Fcドメインの各々は、ヘテロ二量体のFcドメイン（「枝ヘテロ二量体Fcドメイン」とも称される）（例えば、図1において、Fcドメイン単量体106および114、またはFcドメイン単量体112および116によって形成されるヘテロ二量体Fcドメイン、図2において、Fcドメイン単量体206および214、またはFcドメイン単量体212および216によって形成されるヘテロ二量体Fcドメイン）であり得る。枝ヘテロ二量体Fcドメインは、E357Kを含むFcドメイン単量体およびK370Dを含む別のFcドメイン単量体によって形成され得る。

10

【0256】

（表3）Fcヘテロ二量体形成方法

方法	変異 (鎖A)	変異 (鎖B)	参考文献
ノブイントゥ ホール (Y-T)	Y407T	T336Y	US Pat. # 8,216,805
ノブイントゥ ホール	Y407A	T336W	US Pat. # 8,216,805
ノブイントゥ ホール	F405A	T394W	US Pat. # 8,216,805
ノブイントゥ ホール	Y407T	T366Y	US Pat. # 8,216,805
ノブイントゥ ホール	T394S	F405W	US Pat. # 8,216,805
ノブイントゥ ホール	T394W, Y407T	T366Y, F406A	US Pat. # 8,216,805
ノブイントゥ ホール	T394S, Y407A	T366W, F405W	US Pat. # 8,216,805
ノブイントゥ ホール	T366W, T394S	F405W, T407A	US Pat. # 8,216,805
ノブイントゥ ホール	S354C, T366W	Y349C, T366S, L368A, Y407V	
ノブイントゥ ホール (CW- CSAV)	Y349C, T366S, L368A, Y407V	S354C, T366W	Zeidler et al, <i>J Immunol.</i> 163: 1246-52, 1999
HA-TF	S364H, F405A	Y349T, T394F	WO2011028952
静電的 ステアリング	K409D	D399K	US 2014/0024111
静電的 ステアリング	K409D	D399R	US 2014/0024111
静電的 ステアリング	K409E	D399K	US 2014/0024111
静電的 ステアリング	K409E	D399R	US 2014/0024111
静電的 ステアリング	K392D	D399K	US 2014/0024111
静電的 ステアリング	K392D	D399R	US 2014/0024111
静電的 ステアリング	K392E	D399K	US 2014/0024111
静電的 ステアリング	K392E	D399R	US 2014/0024111

10

20

30

方法	変異 (鎖A)	変異 (鎖B)	参考文献
静電的 ステアリング (DD-KK)	K392D, K409D	E356K, D399K	Gunasekaran et al., <i>J Biol Chem.</i> 285: 19637-46, 2010
静電的 ステアリング	K370E, K409D, K439E	E356K, E357K, D399K	WO 2006/106905
ノブイントゥ ホール+ 静電的 ステアリング	S354C, E357K, T366W	Y349C, T366S, L368A, K370D, Y407V	WO 2015/168643
VYAV-VLLW	T350V, L351Y, F405A, Y407V	T350V, T366L, K392L, T394W	Von Kreudenstein et al, <i>MAbs</i> , 5:646-54, 2013
EEE-RRR	D221E, P228E, L368E	D221R, P228R, K409R	Strop et al, <i>J Mol Biol</i> , 420:204-19, 2012
EW-RVT	K360E, K409W	Q347R, D399V, F405T	Choi et al, <i>Mol Cancer Ther</i> , 12:2748-59, 2013
EW-RVT _{S-S}	K360E, K409W, Y349C	Q347R, D399V, F405T, S354C	Choi et al, <i>Mol Immunol</i> , 65:377-83, 2015
電荷導入 (DK)	L351D	T366K	De Nardis, <i>J Biol Chem</i> , 292:14706-17, 2017
電荷導入 (DEKK)	L351D, L368E	L351K, T366K	De Nardis, <i>J Biol Chem</i> , 292:14706-17, 2017
L-R	F405L	K409R	Labrijn et al, <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> , 110:5145-50, 2013
	IgG/A キメラ	IgG/A キメラ	Davis et al, <i>Protein Eng Des Sel</i> , 23:195-202, 2010
	S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R, T411R	Skegro et al, <i>J Biol Chem</i> , 292:9745-59, 2017
	S364K, T366V, K370T, K392Y, K409W, T411N	F405A, Y407S	Skegro et al, <i>J Biol Chem</i> , 292:9745-59, 2017

10

20

30

40

方法	変異（鎖A）	変異（鎖B）	参考文献
	Q347A, S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R, T411R	Skegro et al, J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
BEAT (A/B – T)	S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R	Skegro et al, J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
DMA-RRVV	K360D, D399M, Y407A	E345R, Q347R, T366V, K409V	Leaver-Fay et al, Structure, 24:641-51, 2016
SYMV-GDQA	Y349S, K370Y, T366M, K409V	E356G, E357D, S364Q, Y407A	Leaver-Fay et al, Structure, 24:641-51, 2016
静電的ステアリング	K370D	E357K	
静電的ステアリング	K370D	E357R	
静電的ステアリング	K370E	E357K	
静電的ステアリング	K370E	E357R	
静電的ステアリング	K370D	D356K	
静電的ステアリング	K370D	D356R	
静電的ステアリング	K370E	D356K	
静電的ステアリング	K370E	D356R	

注記：すべての残基はE Uナンバリングスキームに従って番号付けされている（E d e l m a n e t a l . , P r o c N a t l A c a d S c i U S A , 6 3 : 7 8 – 8 5 , 1 9 6 9 ）

【0257】

F c ドメイン単量体のホモ二量体形成

F c ドメイン単量体のホモ二量体形成は、対称的であるように両F c ドメイン単量体内に、同一の静電的ステアリング変異（ホモ二量体形成選択性モジュール）を導入することによって、促進することが可能である。いくつかの実施形態では、2つのF c ドメイン単量体が、C_H3ドメイン間の界面における電荷をもつ残基の環内の少なくとも2つの位置において、同一の逆電荷の変異を含有するホモ二量体形成選択性モジュールを含む。2つのF c ドメイン単量体内の残基の2以上の相補的な対の両要素の電荷が反転していることによって、変異したF c ドメイン単量体は同じ変異の配列のF c ドメイン単量体に対して相補性を維持するが、こうした変異なしではF c ドメイン単量体に対する相補性はより小さい。F c ドメイン単量体に導入されてそのホモ二量体形成を促進し得る静電ステアリング変異を、これらに限定されないが、表4Aおよび4Bに示す。一実施形態では、F c ドメインは、各々が二重逆電荷変異（表4Aおよび4B）、例えば、K409D/D399Kを含む、2つのF c ドメイン単量体を含む。別の実施形態では、F c ドメインは、四重逆電荷変異体（表4Aおよび表4B）、例えば、K409D/D399K/K370D/E357Kを各々含む、2つのF c ドメイン単量体を含む。

【0258】

例えば、3つのF c ドメインを有するF c 抗原結合ドメイン構築体において、3つのう

ち1つのFcドメインは、静電的ステアリング効果により促進される場合、2つのFcドメイン単量体のホモ二量体形成によって形成され得る。「ホモ二量体Fcドメイン」という用語は、2つのFcドメイン単量体のホモ二量体形成によって形成されるFcドメインを指すものであって、当該2つのFcドメイン単量体は、同一の逆電荷の変異（例えば、表5および6の変異を参照）を含有する。3つのFcドメイン、すなわち1つのカルボキシル末端の「幹」Fcドメインと、2つのアミノ末端の「枝」Fcドメインとを有するFc抗原結合ドメイン構築体において、カルボキシル末端の「幹」Fcドメインは、ホモ二量体のFcドメイン（「幹ホモ二量体Fcドメイン」とも称される）となり得る。幹ホモ二量体Fcドメインは、二重変異体K409D/D399Kをそれぞれ含有する2つのFcドメイン単量体によって形成され得る。

10

【0259】

（表4A）Fcホモ二量体形成方法－各鎖に2つの変異

方法	変異（鎖AおよびB）	参考文献
野生型	なし	US Pat. # 8,216,805
静電的ステアリング(KD)	D399K/K409D	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
静電的ステアリング	D399K/K409E	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
静電的ステアリング	E357KK370D	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
静電的ステアリング	E357K/K370E	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
静電的ステアリング	D356K/K439D	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
静電的ステアリング	D356K/K439E	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
静電的ステアリング	K392D/D399K	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
静電的ステアリング	K392E/D399K	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
静電的ステアリング	K409D/D399R	
静電的ステアリング	K409E/D399R	
静電的ステアリング	K392D/D399R	

20

30

40

【0260】

（表4B）Fcホモ二量体形成方法－各鎖に4つの変異

ホモ二量体Fcドメイン内の 2つのFcドメイン単量体の各々の C _H 3抗体定常ドメインにおける逆電荷変異（複数可）	ホモ二量体Fcドメイン内の 2つのFcドメイン単量体の各々の C _H 3抗体定常ドメインにおける逆電荷変異（複数可）
K409D/D399K/K370D/E357K	K392D/D399K/K370D/E357K
K409D/D399K/K370D/E357R	K392D/D399K/K370D/E357R
K409D/D399K/K370E/E357K	K392D/D399K/K370E/E357K
K409D/D399K/K370E/E357R	K392D/D399K/K370E/E357R
K409D/D399K/K370D/D356K	K392D/D399K/K370D/D356K
K409D/D399K/K370D/D356R	K392D/D399K/K370D/D356R
K409D/D399K/K370E/D356K	K392D/D399K/K370E/D356K
K409D/D399K/K370E/D356R	K392D/D399K/K370E/D356R
K409D/D399R/K370D/E357K	K392D/D399R/K370D/E357K
K409D/D399R/K370D/E357R	K392D/D399R/K370D/E357R
K409D/D399R/K370E/E357K	K392D/D399R/K370E/E357K
K409D/D399R/K370E/E357R	K392D/D399R/K370E/E357R
K409D/D399R/K370D/D356K	K392D/D399R/K370D/D356K
K409D/D399R/K370D/D356R	K392D/D399R/K370D/D356R
K409D/D399R/K370E/D356K	K392D/D399R/K370E/D356K
K409D/D399R/K370E/D356R	K392D/D399R/K370E/D356R
K409E/D399K/K370D/E357K	K392E/D399K/K370D/E357K
K409E/D399K/K370D/E357R	K392E/D399K/K370D/E357R
K409E/D399K/K370E/E357K	K392E/D399K/K370E/E357K

10

20

30

ホモ二量体Fcドメイン内の 2つのFcドメイン単量体の各々の C _H 3抗体定常ドメインにおける逆電荷変異（複数可）	ホモ二量体Fcドメイン内の 2つのFcドメイン単量体の各々の C _H 3抗体定常ドメインにおける逆電荷変異（複数可）
K409E/D399K/K370E/E357R	K392E/D399K/K370E/E357R
K409E/D399K/K370D/D356K	K392E/D399K/K370D/D356K
K409E/D399K/K370D/D356R	K392E/D399K/K370D/D356R
K409E/D399K/K370E/D356K	K392E/D399K/K370E/D356K
K409E/D399K/K370E/D356R	K392E/D399K/K370E/D356R
K409E/D399R/K370D/E357K	K392E/D399R/K370D/E357K
K409E/D399R/K370D/E357R	K392E/D399R/K370D/E357R
K409E/D399R/K370E/E357K	K392E/D399R/K370E/E357K
K409E/D399R/K370E/E357R	K392E/D399R/K370E/E357R
K409E/D399R/K370D/D356K	K392E/D399R/K370D/D356K
K409E/D399R/K370D/D356R	K392E/D399R/K370D/D356R
K409E/D399R/K370E/D356K	K392E/D399R/K370E/D356K
K409E/D399R/K370E/D356R	K392E/D399R/K370E/D356R

10

20

【0261】

V I I . リンカー

本開示では、ポリペプチドまたはタンパク質ドメインおよび／または会合する非タンパク質部分間における結合または接続を説明するために、リンカーを用いる。いくつかの実施形態では、リンカーは、少なくとも2つのFcドメイン単量体間の結合または接続であり、それに対してリンカーが、第1のFcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメインのC末端を、第2のFcドメイン単量体のヒンジドメインのN末端に対して、2つのFcドメイン単量体が互いに直列に連結するように接続するものである。他の実施形態では、リンカーは、Fcドメイン単量体とそれに付加されるその他のタンパク質ドメインとの間の結合である。例えばリンカーは、Fcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメインのC末端を、アルブミン結合ペプチドのN末端に付加させることが可能である。

30

【0262】

リンカーは、例えばペプチド結合である単純な共有結合、例えばポリエチレングリコール（PEG）ポリマーである合成ポリマー、または、例えば化学的複合体化である化学反応で形成した任意の種類の結合とすることが可能である。リンカーがペプチド結合である場合は、一方のタンパク質ドメインのC末端におけるカルボン酸基が、縮合反応でもう一方のタンパク質ドメインのN末端におけるアミノ酸と反応して、ペプチド結合を形成することが可能である。詳細には、ペプチド結合は、この技術分野で周知の従来の有機化学反応を経る合成手段により、または、宿主細胞からの自然な産生により形成することが可能であるものであって、例えば2つのFcドメイン単量体である、直列にしたタンパク質両方のDNA配列をコードするポリヌクレオチド配列を、宿主細胞内の、例えばDNAポリメラーゼおよびリボソームである、必要な分子機械（molecular machinery）によって両方のタンパク質をコードする隣接し合うポリペプチドへと直接転写または翻訳されることが可能である。

40

【0263】

50

リンカーが合成ポリマー、例えばPEGポリマーである場合には、該ポリマーは、各端部が反応性の化学官能基で官能化されて、2つのタンパク質の接続端にある末端アミノ酸と反応することが可能である。

【0264】

リンカー（上記に示したペプチド結合は除く）が化学反応により形成される場合には、例えばアミン、カルボン酸、エステル、アジドまたはこの技術分野で通常用いられる他の官能基である化学官能基が、一方のタンパク質のC末端と、もう一方のタンパク質のN末端とのそれぞれに対して合成的に付加することが可能である。この2つの官能基はその後、合成化学手段を経て反応して化学結合を形成することによって、2つのタンパク質をひとつに接続することが可能である。こうした化学的複合体化の手順は、当業者にとってルーチンである。

【0265】

スペーサー

本開示では、2つのFcドメイン単量体間のリンカーは、3～200のアミノ酸（例えば、3～200、3～180、3～160、3～140、3～120、3～100、3～90、3～80、3～70、3～60、3～50、3～45、3～40、3～35、3～30、3～25、3～20、3～15、3～10、3～9、3～8、3～7、3～6、3～5、3～4、4～200、5～200、6～200、7～200、8～200、9～200、10～200、15～200、20～200、25～200、30～200、35～200、40～200、45～200、50～200、60～200、70～200、80～200、90～200、100～200、120～200、140～200、160～200または180～200のアミノ酸）を含むアミノ酸スペーサーとすることが可能である。いくつかの実施形態では、2つのFcドメイン単量体間のリンカーは、少なくとも12のアミノ酸、例えば、12～200のアミノ酸（例えば、12～200、12～180、12～160、12～140、12～120、12～100、12～90、12～80、12～70、12～60、12～50、12～40、12～30、12～20、12～19、12～18、12～17、12～16、12～15、12～14または12～13のアミノ酸）（例えば、14～200、16～200、18～200、20～200、30～200、40～200、50～200、60～200、70～200、80～200、90～200、100～200、120～200、140～200、160～200、180～200または190～200のアミノ酸）を含有するアミノ酸スペーサーである。いくつかの実施形態では、2つのFcドメイン単量体間のリンカーは、12～30のアミノ酸（例えば、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30のアミノ酸）を含有するアミノ酸スペーサーである。好適なペプチドスペーサーはこの分野において既知であり、例えば、グリシンおよびセリン等のフレキシブルなアミノ酸残基を含有するペプチドリリンカーを含む。或る実施形態では、スペーサーは、例えばGS、GGS、GGGS（配列番号1）、GSGG（配列番号2）またはSGGG（配列番号3）の、複数のモチーフまたは繰り返しモチーフであるモチーフを含有することが可能である。或る実施形態では、スペーサーは、例えばGS、GSGS（配列番号4）、GSGSGS（配列番号5）、GSGSGSGS（配列番号6）、GSGSGSGSGS（配列番号7）またはGSGSGSGSGSGS（配列番号8）である、GSのモチーフを含む2～12のアミノ酸を含有することが可能である。他の或る実施形態では、スペーサーは、例えばGGS、GGS GG S（配列番号9）、GGS GG S GG S（配列番号10）およびGGS GG S GG S GG S（配列番号11）である、GGSのモチーフを含む3～12のアミノ酸を含有することが可能である。さらに他の実施形態では、スペーサーは、例えばGGS GG S GG S（配列番号12）、GGS GG S GG S GG S（配列番号13）、GGS GG S GG S GG S GG S（配列番号14）またはGGS GG S GG S GG S GG S GG S GG S（配列番号15）である、GGS（配列番号2）のモチーフを含む4～20のアミノ酸を含有することが可能である。他の実施形態では、スペーサーは、例えばGGGGSGGGGS（配

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

50

50

50

50

他の実施形態では、スパーサーはまた、グリシンおよびセリン以外のアミノ酸を含有すること、例えば G E N L Y F Q S G G（配列番号 28）、S A C Y C E L S（配列番号 29）、R S I A T（配列番号 30）、R P A C K I P N D L K Q K V M N H（配列番号 31）、G G S A G G S G S G S S G G S S G A S G T G T A G G T G S G S G T G S G（

配列番号 32)、AAANS S I D L I S V P V D S R (配列番号 33) または G G S G G G S E G G G S E G G G S E G G G S E G G G S G G G S (配列番号 34) を含有することも可能である。

【0271】

本開示における或る実施形態では、12アミノ酸ペプチドスペーサーまたは20アミノ酸ペプチドスペーサーを用いて、2つのFcドメイン単量体、それぞれ配列 G G G S G G S G G G S (配列番号 35) および S G G G S G G G S G G G S G G G S G G G (配列番号 18) からなる12アミノ酸ペプチドスペーサーおよび20アミノ酸ペプチドスペーサーが直列に接続される。他の実施形態では、配列 G G S G G G S G G G S G G G S G G S (配列番号 36) からなる18アミノ酸ペプチドスペーサーを用いることができる。

10

【0272】

いくつかの実施形態では、2つのFcドメイン単量体間のスペーサーは、上述の配列番号1～36のいずれか1つの配列に対し、少なくとも75%同一（例えば、少なくとも77%、79%、81%、83%、85%、87%、89%、91%、93%、95%、97%、99%、または99.5%同一）である配列を有し得る。特定の実施形態では、2つのFcドメイン単量体間のスペーサーは、配列番号17、18、26、および27のいずれか1つの配列に対し、少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%、85%、87%、90%、92%、95%、97%、99%、または99.5%同一）である配列を有し得る。特定の実施形態では、2つのFcドメイン単量体間のスペーサーは、配列番号18または27の配列に対し、少なくとも80%同一（例えば、少なくとも82%、85%、87%、90%、92%、95%、97%、99%、または99.5%）である配列を有し得る。

20

【0273】

特定の実施形態では、Fcドメイン単量体のヒンジのアミノ末端と、同じポリペプチド内にあるFc単量体のカルボキシ末端との間のリンカー（すなわち、リンカーは、第1のFcドメイン単量体のC_H3抗体定常ドメインのC末端を、第2のFcドメイン単量体のヒンジドメインのN末端に接続し、これにより、2つのFcドメイン単量体は、互いに直列に結合される）は、共有結合ではなく3つ以上のアミノ酸（例えば、3～200個のアミノ酸（例えば、3～200、3～180、3～160、3～140、3～120、3～100、3～90、3～80、3～70、3～60、3～50、3～45、3～40、3～35、3～30、3～25、3～20、3～15、3～10、3～9、3～8、3～7、3～6、3～5、3～4、4～200、5～200、6～200、7～200、8～200、9～200、10～200、15～200、20～200、25～200、30～200、35～200、40～200、45～200、50～200、60～200、70～200、80～200、90～200、100～200、120～200、140～200、160～200、もしくは180～200個のアミノ酸）を有するスペーサー、または12～200個のアミノ酸（例えば、12～200、12～180、12～160、12～140、12～120、12～100、12～90、12～80、12～70、12～60、12～50、12～40、12～30、12～20、12～19、12～18、12～17、12～16、12～15、12～14、もしくは12～13個のアミノ酸）など、少なくとも12個のアミノ酸（例えば、14～200、16～200、18～200、20～200、30～200、40～200、50～200、60～200、70～200、80～200、90～200、100～200、120～200、140～200、160～200、180～200、もしくは190～200個のアミノ酸））を含有するアミノ酸スペーサーである。

30

40

【0274】

スペーサーはまた、Fcドメイン単量体のヒンジドメインのN末端と、CD38結合ドメイン（例えば、CD38重鎖結合ドメインのCH1ドメインまたはCD38軽鎖結合ドメインのCLドメイン）のカルボキシ末端との間に存在してもよく、これにより、ドメインは、3つ以上のアミノ酸（例えば、3～200個のアミノ酸（例えば、3～200、3

50

～180、3～160、3～140、3～120、3～100、3～90、3～80、3～70、3～60、3～50、3～45、3～40、3～35、3～30、3～25、3～20、3～15、3～10、3～9、3～8、3～7、3～6、3～5、3～4、4～200、5～200、6～200、7～200、8～200、9～200、10～200、15～200、20～200、25～200、30～200、35～200、40～200、45～200、50～200、60～200、70～200、80～200、90～200、100～200、120～200、140～200、160～200、もしくは180～200個のアミノ酸)のスペーサー、または12～200個のアミノ酸(例えば、12～200、12～180、12～160、12～140、12～120、12～100、12～90、12～80、12～70、12～60、12～50、12～40、12～30、12～20、12～19、12～18、12～17、12～16、12～15、12～14、もしくは12～13個のアミノ酸)など、少なくとも12個のアミノ酸(例えば、14～200、16～200、18～200、20～200、30～200、40～200、50～200、60～200、70～200、80～200、90～200、100～200、120～200、140～200、160～200、180～200、もしくは190～200個のアミノ酸))を含有するアミノ酸スペーサーによって結合される。

10

【0275】

V I I I . 血清タンパク質結合ペプチド

血清タンパク質をペプチドに結合することで、タンパク質薬剤の薬物動態を向上させることが可能であり、特にここに記載するFc抗原結合ドメイン構築体は、血清タンパク質結合ペプチドと融合し得る。

20

【0276】

一例として、ここに記載の方法および組成物に用いることが可能であるアルブミン結合ペプチドは、概して、この技術分野において既知である。一実施形態では、アルブミン結合ペプチドは、配列D I C L P R W G C L W (配列番号37)を含む。いくつかの実施形態では、アルブミン結合ペプチドは、配列番号37の配列と、少なくとも80%同一(例えば、80%、90%または100%同一)である配列を有する。

【0277】

本開示では、アルブミン結合ペプチドは、Fc抗原結合ドメイン構築体内の特定のポリペプチドのN末端またはC末端に付加され得る。一実施形態では、アルブミン結合ペプチドは、CD38結合ドメインを含有するFc構築体中の1つ以上のポリペプチドのC末端に付加され得る。別の実施形態では、アルブミン結合ペプチドは、CD38結合ドメインを含有するFc構築体中で直列に連続して連結された2つのFcドメイン単量体をコードするポリペプチドのC末端に融合され得る。さらに別の実施形態では、アルブミン結合ペプチドは、直列に接続した2つのFcドメイン単量体をコードするポリペプチド内の第2のFcドメイン単量体と連結するFcドメイン単量体C末端(例えば、図1のFcドメイン単量体114および116、図2のFcドメイン単量体214および216)に付加することが可能である。アルブミン結合ペプチドは、例えば化学的複合体化である化学的手段を介して、Fc抗原結合ドメイン構築体と遺伝的に融合、または、Fc抗原結合ドメイン構築体に付加されることが可能である。所望であれば、Fc抗原結合ドメイン構築体とアルブミン結合ペプチドとの間にスペーサーを挿入することが可能である。学説には拘束されないが、本開示のFc抗原結合ドメイン構築体中にアルブミン結合ペプチドが含まれることで、血清アルブミンと治療用タンパク質との結合を介して、治療用タンパク質の滞留延長がもたらされ得ることが期待される。

30

40

【0278】

I . Fc抗原結合ドメイン構築体

概して、本開示は、2～10個のFcドメインと、1つ以上のCD38結合ドメインとが付加された、Fc抗原結合ドメイン構築体を特徴とする。これらは、Fc受容体の1つの野生型Fcドメイン(例えばFcγRIIIa)よりも高い結合アフィニティーおよび

50

／またはアビディティを有し得る。この開示は、Fcドメインの2つのFcドメイン単量体が互いと二量体を選択的に形成して、それによって望まない多量体または凝集の形成を回避するように、相互作用する2つのC_H3抗体定常ドメインの界面においてアミノ酸を改変する方法を開示する。Fc抗原結合ドメイン構築体は、偶数のFcドメイン単量体を含み、Fcドメイン単量体の各対がFcドメインを形成する。Fc抗原結合ドメイン構築体は、4つのFcドメイン単量体の二量体から形成される最小で2つの機能性Fcドメインと、1つのCD38結合ドメインとを含む。CD38結合ドメインは、例えばリンカー、スパーサー、ペプチド結合、化学結合または化学的部分により、Fcドメインに結合され得る。

【0279】

10

Fc抗原結合ドメイン構築体は、多くの方法で組み立てることができる。Fc抗原結合ドメイン構築体は、非対称の直列Fcドメインから組み立てられ得る(図1～6)。Fc抗原結合ドメイン構築体は、単独で分岐したFcドメインから組み立てられ得、この分岐点は、N末端Fcドメインにある(図7～12)。Fc抗原結合ドメイン構築体は、単独で分岐したFcドメインから組み立てられ得、この分岐点は、C末端Fcドメインにある(図13～18)。Fc抗原結合ドメイン構築体は、単独で分岐したFcドメインから組み立てられ得、この分岐点は、N末端FcドメインにもC末端Fcドメインにもない(図19～21)。

【0280】

20

CD38結合ドメインは、多くの方法でFc抗原結合ドメイン構築体に結合され得る。CD38結合ドメインは、Fc鎖の融合タンパク質として発現され得る。CD38結合Fabの重鎖構成要素は、Fc鎖の融合タンパク質として発現され得、軽鎖構成要素は、別個のポリペプチドとして発現され得る(図50、パネルA)。いくつかの実施形態では、scFvは、CD38結合ドメインとして使用される。scFvは、Fc長鎖の融合タンパク質として発現され得る(図50、パネルB)。いくつかの実施形態では、長鎖構成要素および軽鎖構成要素は別個に発現され、Fc抗原結合ドメイン構築体に外因的に付加される。いくつかの実施形態では、CD38結合ドメインは別個に発現され、後に化学結合によりFc抗原結合ドメイン構築体に結合される(図50、パネルC)。

【0281】

30

いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のFcポリペプチドは、C末端リシン残基を欠く。いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中のすべてのFcポリペプチドは、C末端リシン残基を欠く。いくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のFcポリペプチドのC末端リシンの非存在は、Fc抗原結合ドメイン構築体(例えば3つのFcドメインを有するFc抗原結合ドメイン構築体)の群の均質性を向上させ得る。例えば少なくとも85%、90%、95%、98%または99%の均質性を有する3つのFcドメインを有するFc抗原結合ドメイン構築体の群。

【0282】

40

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFc抗原結合ドメイン構築体中の第1、第2、第3、第4、第5、または第6のポリペプチド(例えば、図1中、ポリペプチド102、112、および114、図2中、ポリペプチド202、214、216、および218、図3中、ポリペプチド302、320、および322、図4中、ポリペプチド402、428、430、および432、図5中、ポリペプチド502、524、および526、図6中、ポリペプチド602、632、634、および636、図7中、ポリペプチド702、708、722、および724、図8中、ポリペプチド802、804、826、および828、図9中、ポリペプチド902、904、934、および936、図10中、ポリペプチド1002、1010、1012、1024、1026、および1032、図11中、ポリペプチド1102、1104、1106、1144、1146、および1148、図12中、ポリペプチド1202、1204、1206、1252、1254、および1256、図13中、ポリペプチド1302、1306、1320、および13

50

24、図14中、ポリペプチド1402、1404、1426、および1428、図15中、ポリペプチド1502、1504、1534、および1536、図16中、ポリペプチド1602、1606、1608、1626、1628、および1632、図17中、ポリペプチド1702、1704、1706、1744、1746、および1748、図18中、ポリペプチド1802、1804、1806、1852、1854、および1856、図19中、ポリペプチド1902、1906、1910、1924、1928、および1932、図20中、ポリペプチド2002、2004、2006、2044、2046、および2048、図21中、ポリペプチド2102、2104、2106、2152、2154、および2156のうちの1つ以上内のN末端Aspが、Glnに変異している場合がある。

10

【0283】

本明細書の実施例に記載される例示的なFc抗原結合ドメイン構築体に関し、Fc抗原結合ドメイン構築体1～21は、それぞれ、ノブおよびホールサブユニットにおいて、E357KとK370Dの電荷対を含有し得る。

【0284】

本明細書に記載される例示的なFc抗原結合ドメイン構築体（例えばFc抗原結合ドメイン構築体1～21）のいずれか1つは、単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害（ADCC）アッセイ、抗体依存性細胞貪食（ADCP）アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害（CDC）アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有することができるか、または単一FcドメインとCD38結合ドメインとを有する構築体には呈されない生物活性を含むことができる。

20

【0285】

X. 宿主細胞およびタンパク質の産生

本開示では、宿主細胞は、本明細書に記載のポリペプチドまたは構築体を、それらの対応する核酸から発現するのに必要であるような、例えばオルガネラである、必要な細胞成分を含むビヒクルを指す。核酸は、この技術分野で既知の従来の技術（形質転換、トランスフェクション、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、直接の微量注入等）によって宿主細胞内に導入されることが可能である核酸ベクター中に含まれ得る。宿主細胞は、哺乳動物起源、細菌起源、真菌起源または虫起源のものとすることが可能である。哺乳動物宿主細胞には、CHO（またはCHO誘導細胞株、例えばCHO-K1、CHO-DXB11、CHO-DG44）、マウス宿主細胞（例えば、NS0、Sp2/0）、VERY、HEK（例えば、HEK293）、BHK、HeLa、COS、MDCK、293、3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20およびT47D、CRL7030ならびにHsS78Bstの細胞が含まれるが、これらに限定されない。また、タンパク質構築体の発現を調節する、または所望の特定の手法でタンパク質産物を修飾およびプロセッシングする、宿主細胞を選択することが可能である。様々な宿主細胞が、タンパク質産物の翻訳後プロセッシングおよび修飾に関する特性および特異的な機序を有する。適切な株化細胞または宿主系を選択して、発現されたタンパク質の正確な修飾およびプロセッシングを確実にすることが可能である。

30

【0286】

タンパク質産物の、それらの対応するDNAプラスミド構築体からの発現および分泌のために、宿主細胞が、プロモータ、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアダニル化部位および選択可能な標識を含む、この技術分野で既知である適切な発現制御要素によって制御されるDNAで、トランスフェクトまたは形質転換され得る。治療用タンパク質の発現方法は、この技術分野で既知である。例えば、Paulina Balbas, Argelia Lorence (eds.) Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Methods in Molecular Biology), Humana Press; 2nd ed. 2004 edition (July 20, 2004), Vladimir Voinov and Justin A. Caravella (eds.) Therape

40

50

utic Proteins: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology) Humana Press; 2nd ed. 2012 edition (June 28, 2012) を参照されたい。

【0287】

XI. 脱フコシル化

各Fc単量体は、Asn 297においてNグリコシル化部位を含む。グリカンは、所与のFc単量体上で多数の異なる形態では存在し得る。本明細書に記載される抗体または抗原結合Fc構築体を含む組成物において、グリカンは、非常に異種であり得、存在するグリカンの性質は、数ある中でも、抗体または抗原結合Fc構築体を産生するために使用される細胞の種類、細胞の増殖条件（増殖培地を含む）、および産生後の精製によって決まり得る。様々な例では、本明細書に記載の構築体またはポリペプチド複合体またはポリペプチドを含む組成物は、少なくともある程度脱フコシル化される。例えば、組成物中に存在するグリカン（例えば、Fcグリカン）の少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、または95%が、フコース残基を欠いている。したがって、グリカンの5%~60%、5%~50%、5%~40%、10%~50%、10%~50%、10%~40%、20%~50%、または20%~40%が、フコース残基を欠いている。少なくともある程度まで脱フコシル化される組成物は、1, 3, 4-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース阻害剤の存在下で抗体を産生する細胞を培養することによって産生され得る。本明細書に記載される構築体およびポリペプチドの比較的脱フコシル化された形態は、FUT8の発現が低減されたか、または発現されない細胞で発現すること（例えば、FUT8をノックアウトするか、またはRNAi（siRNA、miRNA、またはshRNA）での発現を低減させることによって）と、ベーター-1, 4-マンノシル糖タンパク質4-ベーター-N-アセチルグルコサミン転移酵素（GnT-III）を過剰発現する細胞で発現することを含む、様々な他の方法を使用して産生され得る。

【0288】

XII. 精製

Fc抗原結合ドメイン構築体は、タンパク質精製分野において既知の任意の方法、例えばクロマトグラフィー（例えば、イオン交換、アフィニティー（例えばプロテインAアフィニティー）およびサイズ排除カラムクロマトグラフィー）、遠心分離、溶解度差、またはタンパク質の精製に関するその他の標準技術によって、精製することが可能である。例えば、Fc抗原結合ドメイン構築体は、プロテインAカラムなどのアフィニティークラムを、適切に選択し、クロマトグラフィーカラム、濾過、限外濾過、塩析および透析手順と組み合わせることによって、単離および精製することができる（例えば、Process Scale Purification of Antibodies, Uwe Gottschalk (ed.) John Wiley & Sons, Inc., 2009、およびSubramanian (ed.) Antibodies—Volume I—Production and Purification, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2004) を参照）。

【0289】

いくつかの事例では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、1つ以上の精製用ペプチドに連結して、例えば全細胞溶解混合物からの、Fc抗原結合ドメイン構築体の精製および単離を促進することが可能である。いくつかの実施形態では、精製用ペプチドは、精製用ペプチドに対して特異的な親和性を有する別の部分と結合する。いくつかの実施形態では、精製用ペプチドと特異的に結合するこうした部分は、基剤、樹脂またはアガロースビーズ等の固相支持体に付加する。Fc抗原結合ドメイン構築体に結合され得る精製用ペプチドの例としては、ヘキサヒスチジンペプチド、FLAGペプチド、mycペプチドおよび赤血球凝集素（HA）ペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。ヘキサヒスチジンペプチド（HHHHHH（配列番号38））は、マイクロモル親和性をもつニッケル官能性アガロースアフィニティークラムと結合する。いくつかの実施形態では、FLAGペプチ

ドは、配列 D Y K D D D D K（配列番号 39）を含む。いくつかの実施形態では、F L A G ペプチドは、直列にした、整数倍にした配列 D Y K D D D D K、例えば 3 × D Y K D D D K を含む。いくつかの実施形態では、m y c ペプチドは、配列 E Q K L I S E E D L（配列番号 40）を含む。いくつかの実施形態では、m y c ペプチドは、直列にした、整数倍にした配列 E Q K L I S E E D L、例えば 3 × E Q K L I S E E D L を含む。いくつかの実施形態では、H A ペプチドは、配列 Y P Y D V P D Y A（配列番号 41）を含む。いくつかの実施形態では、H A ペプチドは、直列にした、整数倍にした配列 Y P Y D V P D Y A、例えば 3 × Y P Y D V P D Y A を含む。F L A G、m y c または H A の精製用ペプチドに対して特異的に認識かつ結合する抗体は、この技術分野で周知であり、しばしば市販されている。これらの抗体により機能化された固相支持体（例えば、基剤、樹脂またはアガロースビーズ）を用いて、F L A G、m y c または H A ペプチドを含む F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することができる。

10

【0290】

F c 抗原結合ドメイン構築体に関し、精製方法としてプロテイン A カラムクロマトグラフィーを採用することができる。プロテイン A リガンドは、F c 領域を介して F c 抗原結合ドメイン構築体と相互作用する。このために、プロテイン A カラムクロマトグラフィーは、大半の宿主細胞タンパク質を除去することができる高度に選択的な捕捉方法となる。本開示では、F c 抗原結合ドメイン構築体は、実施例 2 に記載されるようにプロテイン A カラムクロマトグラフィーを使用して精製され得る。

【0291】

20

X I I I . 薬学的組成物／製剤

本開示は、本明細書に記載の 1 つ以上の F c 抗原結合ドメイン構築体を含む薬学的組成物を特徴とする。一実施形態では、薬学的組成物は、構造が同一または実質的に同一である F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な群を含む。様々な例において、薬学的組成物は、F c 抗原結合ドメイン構築体 1 ～ 42 のいずれか 1 つの実質的に均質な群を含む。

【0292】

例えば本明細書に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体（例えば、3 つの F c ドメインを有する F c 抗原結合ドメイン構築体）などの本開示の治療用タンパク質構築体を、薬学的組成物内に組み込むことが可能である。治療用タンパク質を含む薬学的組成物は、当業者に既知である方法によって調製することが可能である。薬学的組成物は、水または他の薬剤的に許容される液体の滅菌溶液または懸濁液を含む注射製剤で非経口投与することが可能である。例えば薬学的組成物は、注射用蒸留水（W F I）、生理食塩水、乳化剤、懸濁剤、サーファクタント、安定剤、希釈剤、結合剤、賦形剤等の薬剤的に許容されるビヒクルまたは溶媒と F c 抗原結合ドメイン構築体とを好適に組み合わせて、次いで通常許容される薬務で求められる単位用量形態で混合することによって、調製することが可能である。薬学的製剤に含まれる活性成分の量は、指定される範囲内で好適な用量が与えられるようなものとする。

30

【0293】

注射用の滅菌組成物は、従来薬務に従って、ビヒクルとして注射用蒸留水を用いて調製することが可能である。例えば、グルコースと、D-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール、塩化ナトリウム等の他の添加とを含有する生理食塩水または等張液を、任意に、好適な可溶化剤、例えばこの技術分野で通常知られる、エタノール等のアルコールおよびプロピレングリコールまたはポリエチレングリコール等のポリアルコール、およびポリソルベート 80（商標）、H C O-50 等の非イオン性界面活性剤と組み合わせて、注射用水溶液として用いることができる。治療用タンパク質産物の調製方法は、この技術分野で既知であり、例えば、B a n g a (e d .) T h e r a p e u t i c P e p t i d e s a n d P r o t e i n s : F o r m u l a t i o n , P r o c e s s i n g a n d D e l i v e r y S y s t e m s (2 d e d .) T a y l o r & F r a n c i s G r o u p , C R C P r e s s (2 0 0 6) を参照されたい。

40

50

【0294】

XIV. 治療方法および投与量

本明細書に記載されるFc抗原結合ドメイン構築体は、様々な癌（例えば、悪性および固形腫瘍）および自己免疫疾患を治療するために使用され得る。

【0295】

癌は、ダラツムマブまたは任意の他の治療用抗CD38モノクローナル抗体治療に耐性を示すものであり得る。癌は、胃癌、乳癌、結腸癌、肺癌、マントル細胞リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、NK細胞白血病、NK/T細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、形質細胞白血病、および複数の骨髄腫から選択され得る。構築体を使用して、アミロイド軽鎖アミロイドーシス、キャッスルマン病、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症（MGUS）、意義不明の二クローン性ガンマグロブリン血症、重鎖疾患、孤立性形質細胞腫（Solitary plasmacytome）、髄外性形質細胞腫を治療することもできる。場合によっては、構築体を使用して、免疫複合体を介した予防的および／または治療的ワクチン効果の誘発により、癌細胞に対する免疫調整機能を増強することができる。

10

【0296】

また、構築体を使用して、形質細胞疾患または単クローン性ガンマグロブリン血症、例えば、軽鎖沈着症、膜性増殖性糸球体腎炎（MGRS）、自己免疫溶血性貧血、Tempi症候群（毛細管拡張症－赤血球増加－単クローン性ガンマグロブリン血症液体貯留－肺内シャント）、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、POEMS症候群（多発ニューロパチー－臓器肥大－内分泌障害－単クローン性形質増殖障害－皮膚）、および原発性マクログロブリン血症を治療することもできる。

20

【0297】

構築体を使用して、自己抗体媒介性疾患、例えば、重症筋無力症（MG）、MuSK-MG、心筋炎、ランバート・イートン筋無力症候群、神経ミオトニー、視神経脊髄炎、ナルコレプシー、急性運動性軸索型ニューロパチー、ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群、急性感覚失調性ニューロパチー、傍腫瘍性スティッフパーソン症候群、慢性ニューロパチー、末梢性ニューロパチー、急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、膜性腎症、糸球体腎炎、肺胞蛋白症、CIPD、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性血小板減少性紫斑病、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、水疱性類天疱瘡、妊娠性類天疱瘡、後天性表皮水疱症、新生児エリテマトーデス、疱疹状皮膚炎、グレーヴス病、アディソン病、卵巣機能不全、自己免疫性精巣炎、シェーグレン症候群、自己免疫性胃炎、関節リウマチ、SLE、ドライアイ病、血管炎（急性）、心臓炎、および抗体関連型拒絶反応を治療することができる。

30

【0298】

薬学的組成物は、投与形態と互換性のある手法で、治療効果があるような量で投与されて、症状の改善または治療をもたらす。薬学的組成物は、例えば静脈内投与形態、皮下投与形態、摂取可能な溶液、薬剤放出カプセル等の経口投与形態である、種々の投与形態で投与される。個々の対象に適切な用量は、治療目的、投与経路、および患者の状態に依存する。概して、組換えタンパク質は、1～200mg/kg、例えば1～100mg/kg、例えば20～100mg/kgで投与される。したがって、最適な治療効果を得るために求められるとおりに、医療提供者が、用量を逃えて、決定し（titer）、投与経路を調整することが必要となる。

40

【0299】

ヒトの治療に加えて、構築体は、イヌおよびネコ等のコンパニオンアニマル、ならびに他の獣医学的対象を治療するために使用され得る。

【0300】

XV. 補体依存性細胞傷害（CDC）

本開示に記載されるFc抗原結合ドメイン構築体は、様々なFc受容体介在性エフェクター機能を活性化することができる。免疫系の構成要素の1つは、補体依存性細胞傷害（

50

CDC) システムである。これは自然免疫系の一部であり、抗体と貪食細胞の能力を強化し、外来性病原体を除去する。古典的補体経路、副補体経路、そしてレクチン経路の3つの生化学的経路が、補体系を活性化する。それら経路すべてが、複雑な活性化とシグナル伝達カスケードのセットを伴っている。

【0301】

古典的補体経路では、IgGまたはIgMが補体活性化のトリガーを引く。抗原に抗体が結合した後、それら抗体にC1qタンパク質が結合し、C1複合体を形成させる。この複合体がC1sエステラーゼを生成し、これがC4およびC2タンパク質を、C4aとC4b、およびC2aとC2bに切断して、活性化する。次いで、C2a断片とC4b断片が、C3転換酵素と呼ばれるタンパク質複合体を形成し、C3をC3aとC3bに切断して、シグナルを増幅させ、膜侵襲複合体を形成させる。

10

【0302】

本開示のFc抗原結合ドメイン構築体は、免疫系によるCDC活性を強化することができる。

【0303】

CDCは比色分析アッセイを使用して評価されてもよく、このアッセイでは、Raji細胞(ATCC)が連続希釈された抗体、Fc抗原結合ドメイン構築体、またはIVIgでコーティングされる。すべてのウェルにヒト血清補体(Quidel社)を2.5% v/vで添加し、37℃で2時間インキュベートしてもよい。細胞を、WST-1細胞増殖試薬(Roche Applied Science社)を添加した後で、37℃で12時間インキュベートしてもよい。次いでプレートを振とう機に2分間置き、450nmの吸光度を測定してもよい。

20

【0304】

XVI. 抗体依存性細胞介在性細胞傷害(ADCC)

本開示のFc抗原結合ドメイン構築体は、免疫系による抗体依存性細胞介在性細胞傷害(ADCC)活性を強化することもできる。ADCCは能動免疫系の一部であり、抗体は外来病原体の表面抗原に結合し、それらを死に至らしめる。ADCCには、抗体によるナチュラルキラー(NK)細胞の活性化が含まれる。NK細胞はFc受容体を発現し、これが例えばIgGおよびIgMなどの抗体のFc部分に結合する。抗体が病原体に感染した標的細胞の表面に結合すると、その後に引き続いてNK細胞に結合し、活性化させる。NK細胞は、例えばIFN-γなどのサイトカイン、例えばパーフォリンおよびグランザイムなどのタンパク質を放出する。パーフォリンは、カルシウムの存在下で多量体形成する孔形成サイトリシンである。グランザイムは、標的細胞中でプログラム化細胞死を誘導するセリンプロテアーゼである。NK細胞に加えて、マクロファージ、好中球、および好酸球もADCCを介在することができる。

30

【0305】

ADCCは、発光アッセイを使用して評価してもよい。ヒト初代NKエフェクター細胞(Hemacare社)を溶解させ、 5×10^5 /mLで、リンパ球増殖培地-3(Lonza社)中、37℃で一晩、そのままの状態にさせておく。次の日、ヒトリンパ芽球様細胞株のRaji標的細胞(ATCC CCL-86)を回収し、アッセイ培地(フェノールレッドフリーのRPMI、10% FBS Δ、GlutaMAX (商標))中に再懸濁させ、様々な濃度の対象の各プローブの存在下で30分間、37℃で播種する。次いで休ませたNK細胞を回収し、アッセイ培地中に再懸濁させ、抗CD20をコートしたRaji細胞を含有するプレートに添加する。エフェクター細胞と標的細胞の最終比率を5:1(5×10^4 NK細胞: 1×10^4 Raji細胞)として、37℃で6時間、プレートをインキュベートする。

40

【0306】

CytoTox-Glo (商標) 細胞傷害アッセイキット(Promega社)を使用して、ADCC活性を決定する。CytoTox-Glo (商標) アッセイは、発光性ペプチド基質を使用して、膜の完全性が失われた細胞、例えば溶解したRaji細胞によっ

50

て放出される死細胞プロテアーゼ活性を測定する。6時間のインキュベーション期間後、調製された試薬（基質）をプレートの各ウェルに加え、室温で15分間オービタルプレート振盪機上に置く。発光は、PHERAstar F5プレートリーダー（BMG Labtech社）を使用して測定される。データは、対照条件（NK細胞+ Rajiのみ）からの読取値を、試験条件からの読み取り値から差し引いて、バックグラウンドを除去した後分析される。

【0307】

XVII. 抗体依存性細胞貪食（ADCP）

本開示のFc抗原結合ドメイン構築体は、免疫系による抗体依存性細胞貪食（ADCP）活性を強化することもできる。ADCPは抗体オプソニン化としても知られており、このプロセスによって、病原体は、貪食細胞による摂食と除去の目印を付けられる。貪食細胞は、有害な外来病原体と、死んだ細胞または死にゆく細胞を摂食することによって身体を保護する細胞である。このプロセスは、病原体関連分子パターン（PAMPs）によって活性化され、NF-κBの活性化へと繋がっていく。次いで例えばC3bと抗体などのオプソニンが標的病原体に付加され得る。標的がオプソニンでコーティングされると、Fcドメインは、そのFc受容体を介して貪食細胞を引き付ける。次いで貪食細胞がその細胞を包み込み、摂食された物質のファゴソームが、リソソームと融合する。次いで、結果として出来たファゴリソソームが、細胞物質をタンパク質分解的に消化する。

【0308】

ADCPは、生物発光アッセイを使用して評価してもよい。抗体依存性細胞介在性貪食（ADCP）は、治療用抗体の重要な作用機序である。ADCPは、FcγRIIa（CD32a）、FcγRI（CD64）、およびFcγRIIIa（CD16a）を介して、単球、マクロファージ、好中球および樹状細胞により介在されることができ、3つすべての受容体が、ADCPを生じさせる抗体認識、免疫受容体のクラスターリングおよびシグナル伝達事象に関与し得る。しかし、阻害実験から、FcγRIIaがこのプロセスに関与する主要Fcγ受容体であることが示唆されている。

【0309】

FcγRIIa-H ADCPレポーターバイオアッセイは、生物発光細胞系アッセイであり、これを使用して、FcγRIIaに特異的に結合および活性化する抗体、ならびにFcドメインを有する他の生物物質の有効性と安定性を測定することができる。アッセイは、アミノ酸131位でヒスチジン（H）を含有する、高アフィニティーヒトFcγRIIa-Hバリエーション、およびNFAT-応答要素（NFAT-RE）により駆動されるルシフェラーゼレポーターを発現する遺伝子改変Jurkat T細胞株からなる。

【0310】

標的細胞と関連抗体を共培養したとき、FcγRIIa-Hエフェクター細胞が抗体のFcドメインに結合し、FcγRIIaシグナル伝達とNFAT-RE-介在性ルシフェラーゼ活性が生じる。生物発光シグナルを検出し、ルシフェラーゼアッセイおよび標準光度計を用いて定量する。

【実施例】

【0311】

以下の実施例は、本明細書において特許請求される方法および化合物をどのように実施するか、作製するか、そして評価するかについて、当分野の当業者に完全な開示と解説を提供する目的で提示されており、本発明者らが、その開示とみなす範囲を限定する意図はない。

【0312】

実施例1. CD38結合ドメインを含むFc抗原結合ドメイン構築体7の設計および精製タンパク質発現

Fc抗原結合ドメイン構築体は、フォールディング効率を増加させ、望ましくない高分子量オリゴマーおよび多量体を生成し得るサブユニットの非制御会合を最小限に抑え、実質的に均質な（例えば、少なくとも85%、90%、95%、98%、または99%均質

10

20

30

40

50

な)薬学的使用のための組成物を生成するように設計される。これらの目標を念頭に、分岐点がN末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体7(CD38)は、各々、2つの別個のFcドメイン単量体含有ポリペプチド(抗CD38長鎖Fc(配列番号ZZ1)の2つのコピーおよび短鎖Fc(配列番号ZZ2)の2つのコピー)と、抗CD38軽鎖ポリペプチド(配列番号ZZ3)の2つのコピーとを含む。長鎖Fcは、E357K電荷変異ならびにS354CおよびT366W突起形成変異(ヘテロ二量体形成を促進する)を有するFcドメイン単量体を、電荷変異(K409D/D399K変異)Fcドメイン単量体(ホモ二量体形成を促進する)と、抗CD38 VHおよびCH1ドメイン(EUの1~220位)と直列に連続してN末端で含有する(構築体7(CD38))。短鎖Fcは、K370D電荷変異、ならびにY349C、T366S、L368A、およびY407V空洞形成変異(ヘテロ二量体形成を促進するため)を含有する。抗CD38軽鎖はまた、scFvの一部として長鎖FcのN末端に融合されて発現され得る。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎(HEK)293細胞にトランスフェクトされる。表7のアミノ酸配列は、3つの別個のプラスミド(1つのプラスミドは軽鎖(抗CD38)をコードし、1つのプラスミドは長鎖Fc(抗CD38)をコードし、1つのプラスミドは短鎖Fcをコードする)によりコードされる。

10

【0313】

(表5)構築体7(CD38)配列

20

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)	短鎖Fc
構築体 7 (CD38)	配列番号 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFLTITSSLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 QLLESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFDDYGMSWV RQAPGKGLEWVSDISWN GGKTHYVDSVKGQFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGSLFHDSSGFY FGHWGQGT LVT VSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVT VSW NSGALTSVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKV RVEPKSCDKHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPP VLKSDGSFFLYSDLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGG GGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGDKHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPCRDKLTKNQV SLWCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	配列番号 DKTHTCPPCPAPELLGGPSV LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS LTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPSRDELTKN QVSLSCAVDGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG

10

20

30

40

【0314】

発現されたタンパク質を、Poros MabCapture A (Life Technologies 社) カラムを使用したプロテインA系のアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより細胞培養上清から精製し、次いでイオン交換クロマトグラフィーによりさらに分取する。精製された試料をおよそ30mg/mLに濃縮し、0.2μmフィルターを通して滅菌濾過する。

【0315】

50

実施例 2. CD38 結合ドメインを含む

Fc 抗原結合ドメイン構築体 13 の設計および精製

タンパク質発現

分岐点が C 末端 Fc ドメインにある、単独分岐した Fc ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc 抗原結合ドメイン構築体 13 (CD38) は、各々、2 つの別個の Fc ドメイン単量体含有ポリペプチド (2 コピーの抗 CD38 長鎖 Fc (配列番号 ZZ のうちのいずれか 1 つ) および 2 コピーの短鎖 Fc (配列番号 ZZ)) と、2 コピーの抗 CD38 軽鎖ポリペプチド (配列番号 ZZ) とを含む。長鎖 Fc は、電荷変異 (K409D/D399K 変異) Fc ドメイン単量体 (ホモ二量体形成を促進する) を、E357K 電荷変異ならびに S354C および T366W 突起形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進する) を有する Fc ドメイン単量体と、抗 CD38 VH および CH1 ドメイン (EU の 1 ~ 220 位) と直列に連続して N 末端で含有する (構築体 13 (CD38))。短鎖 Fc は、K370D 電荷変異、ならびに Y349C、T366S、L368A、および Y407V 空洞形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進するため) を含有する。抗 CD38 軽鎖ならびに抗 CD38 VH および CH1 は、抗 CD38 モノクローナル抗体から取られる。この軽鎖ならびに抗 CD38 VH および CH1 を含む構築体を、略語 CD38 によって示す。関連する構築体を、カニクイザルにより発現された CD38 と交差反応する完全ヒトモノクローナル抗体から取られた抗 CD38 軽鎖ならびに抗 CD38 VH および CH1 を使用して生成することができる。これらの構築体を、略語 Cyno によって示す。CD38 軽鎖はまた、scFv の一部として長鎖 Fc の N 末端に融合されて発現され得る。構築体 13 の他の型が抗 CD38 重鎖とともに作製され得、各型は、長鎖 Fc ポリペプチド中の Fc ドメイン単量体間に異なる大きさのグリシンスペーサー (G4、G10、G15、または G20 リンカー) を保有する。DNA 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNA プラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎 (HEK) 293 細胞にトランスフェクトされる。以下の構築体の各々に対するアミノ酸配列は、3 つの別個のプラスミド (1 つのプラスミドは軽鎖 (抗 CD38) をコードし、1 つのプラスミドは長鎖 Fc (抗 CD38) をコードし、1 つのプラスミドは短鎖 Fc をコードする) によりコードされる。

【0316】

(表 6) 構築体 13 (CD38) 配列

10

20

30

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1)	短鎖Fc
構築体 13 (CD38), G ₂₀ リンカー S3Y-CD38	配列番号 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISSEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWWSAISGSGGTY YADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEPVFDYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVT SWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDKLTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLSKSDGSFFLYSD LTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG	配列番号 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKN QVSLCAVDGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
構築体 13 (CD38), G ₂₀ リンカー S3Y-Cyno-001	配列番号 QSVLTQPPSASGTPGQRV TISCSGSSNIGDNYVSWY QQLPGTAPKLLIYRDSQRP SGVPDRFSGSKGTSASLA ISGLRSEDEADYYCQSYDS SLSGSVFGGGTKLTVLGQ PKANPTVTFLPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADGSPVKAGVETTK PSKQSNKYAASSYLSLTP EQWKSRSYSQCQVTHEG STVEKTVAPTECS	配列番号 QLLESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFDDYGMSWV RQAPGKGLEWVSDISWN GGKTHYVDSVKGQFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGSLFHDSSGFY FGHWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDK	配列番号 DKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSC AVDGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGN

10

20

30

40

		RVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPCRDKLTK NQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKG GGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NAKALPAIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPV LKSDGDSFFLYSDLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	VFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

10

20

【0317】

発現されたタンパク質を、Poros MabCapture A (Life Technologies 社) カラムを使用したプロテインA系のアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより細胞培養上清から精製し、次いで精製された試料をおよそ30mg/mLに濃縮して、0.2μmフィルターを通して滅菌濾過した。

30

【0318】

実施例3. Fc抗原結合ドメイン構築体1の設計および精製

非対称直列Fcドメインから形成された非分岐構築体は、以下に記載されるように作製される。Fc抗原結合ドメイン構築体1 (図1) は、2つの別個のFcドメイン単量体含有ポリペプチド (長鎖Fcおよび短鎖Fcの2つのコピー) および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、2つのFcドメイン単量体を、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有し、この場合において各Fcドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異 (例えば、S354CおよびT366W変異)、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異 (例えば、E357K)

40

(ヘテロ二量体形成を促進する)を導入することにより作製される、改変突起を有する。CD38結合ドメインは、長鎖Fcと同じアミノ酸配列の一部として発現され得る (例えば、scFvを形成するため)。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異 (例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異)、ならびに任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異 (例えば、K370D) (ヘテロ二量体形成を促進する)を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体を含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎 (HEK) 293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。本

50

実施例では、かつFc抗原結合ドメイン構築体2～42についての以下の実施例の各々では、細胞は、抗体可変軽鎖を発現する第3のプラスミドを含有し得る。

【0319】

発現されたタンパク質を、Poros MabCapture A (Life Technologies 社) カラムを使用したプロテインA系のアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより細胞培養上清から精製する。捕捉されたFc抗原結合ドメイン構築体を、リン酸緩衝生理食塩水で洗浄し(低塩洗浄)、100mMのグリシン(pH3)で溶出する。溶出液を1M TRIS (pH7.4)の添加によって素早く中和し、0.2µm フィルターに通して滅菌濾過する。Poros XS樹脂(Applied Biosciences 社)を使用したイオン交換クロマトグラフィーによりタンパク質をさらに分取する。カラムを50mMのMES (pH6) (緩衝液A)で予め平衡化し、試料を、50mMのMES、400mMの塩化ナトリウム(pH6) (緩衝液B)を溶出緩衝液として使用した段階勾配で溶出する。イオン交換後、標的画分を、接線流濾過システム上で10kDaカットオフポリエーテルスルホン(PES)膜カートリッジを使用してPBS緩衝液に緩衝液交換する。試料をおよそ30mg/mLに濃縮し、0.2µm フィルターに通して滅菌濾過する。

10

【0320】

サンプルを、Laemmli サンプルバッファー(4%SDS、Bio-Rad 社)中で、95℃で10分間、変性させる。サンプルを、Criterion TGX stain-free ゲル(4~15%ポリアクリルアミド、Bio-Rad 社)で電気泳動にかける。タンパク質のバンドは、UV照射またはクマシーブルー染色で可視化する。Chemidoc MP イメージングシステム(Bio-Rad 社)でゲルを画像化する。ImageLab 4.0.1 ソフトウェア(Bio-Rad 社)を用いて、バンドの定量化を行う。

20

【0321】

実施例4. Fc抗原結合ドメイン構築体2の設計および精製

非対称直列Fcドメインから形成された非分岐構築体は、以下に記載されるように作製される。Fc抗原結合ドメイン構築体2(図2)は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド(長鎖Fcおよび短鎖Fcの3つのコピー)および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、3つのFcドメイン単量体を、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有し、この場合において各Fcドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異(例えば、S354CおよびT366W変異)、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、E357K)を導入することにより作製される、改変突起を有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異(例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異)、および任意に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、K370D)を導入することによって作製される改変された空洞を有するFcドメイン単量体を含む。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎(HEK)293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

30

40

【0322】

実施例5. Fc抗原結合ドメイン構築体3の設計および精製

非対称直列Fcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体3(図3)は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド(長鎖Fcおよび短鎖Fcの2つのコピー)および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、2つのFcドメイン単量体を直列に連続して含有し、この場合において各Fcドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異(例えば、S354CおよびT366W変異)、ならびに任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上

50

の逆電荷変異（例えば、E 3 5 7 K）を導入することにより作製される、改変突起を有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、およびY 4 0 7 V変異）、および任意選択的に表4 Aまたは4 Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K 3 7 0 D）を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD 3 8 結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA 3. 4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

10

【0323】

実施例6. Fc抗原結合ドメイン構築体4の設計および精製

非対称直列Fcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体4（図4）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcおよび短鎖Fcの3つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、3つのFcドメイン単量体を直列に連続して含有し、この場合において各Fcドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S 3 5 4 CおよびT 3 6 6 W変異）、ならびに任意選択的に表4 Aまたは4 Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E 3 5 7 K）を導入することにより作製される、改変突起を有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、およびY 4 0 7 V変異）、および任意選択的に表4 Aまたは4 Bから選択される逆電荷変異（例えば、K 3 7 0 D）を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD 3 8 結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA 3. 4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

20

【0324】

実施例7. Fc抗原結合ドメイン構築体5の設計および精製

非対称直列Fcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体5（図5）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcおよび短鎖Fcの2つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、2つのFcドメイン単量体を、CD 3 8 結合ドメインと直列に連続してN末端で含有し、この場合において各Fcドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S 3 5 4 CおよびT 3 6 6 W変異）、および任意選択的に表4 Aまたは4 Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E 3 5 7 K）を導入することにより作製される、改変突起を有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、およびY 4 0 7 V変異）、および任意選択的に表4 Aまたは4 Bから選択される逆電荷変異（例えば、K 3 7 0 D）を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD 3 8 結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA 3. 4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

30

40

【0325】

実施例8. Fc抗原結合ドメイン構築体6の設計および精製

非対称直列Fcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体6（図6）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（

50

長鎖Fcおよび短鎖Fcの3つのコピー)および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、3つのFcドメイン単量体を、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有し、この場合において各Fcドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異(例えば、S354CおよびT366W変異)、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、E357K)を導入することにより作製される、改変突起を有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異(例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異)、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異(例えば、K370D)を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎(HEK)293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

10

【0326】

実施例9. Fc抗原結合ドメイン構築体7の設計および精製

分岐点がN末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体7(図7)は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド(長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの2つのコピー)および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異(例えば、S354CおよびT366W変異)、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、E357K)を導入することにより作製される改変突起を有するFcドメイン単量体を、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異(例えば、K409D/D399K変異)を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異(例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異)、および任意に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、K370D)を導入することによって作製される改変された空洞を有するFcドメイン単量体を含む。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎(HEK)293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

20

30

【0327】

実施例10. Fc抗原結合ドメイン構築体8の設計および精製

分岐点がN末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体8(図8)は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド(長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの2つのコピー)および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異(例えば、S354CおよびT366W変異)、ならびに任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、E357K)を導入することにより作製される改変突起を有するFcドメイン単量体を、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異(例えば、K409D/D399K変異)を有するFcドメイン単量体と直列に連続して含有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異(例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異)、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、K370D)を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎(HEK)293細胞にトランスフェク

40

50

トされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

【0328】

実施例11. Fc抗原結合ドメイン構築体9の設計および精製

分岐点がN末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体9（図9）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの2つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S354CおよびT366W変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E357K）を導入することにより作製される改変突起を有するFcドメイン単量体を、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異（例えば、K409D/D399K変異）を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K370D）を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

10

20

【0329】

実施例12. Fc抗原結合ドメイン構築体10の設計および精製

分岐点がN末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体10（図10）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの4つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、2つのFcドメイン単量体を、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異（例えば、K409D/D399K変異）を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有し、この場合において各Fcドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S354CおよびT366W変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E357K）を導入することにより作製される、改変突起を有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異）、および任意に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K370D）を導入することによって作製される改変された空洞を有するFcドメイン単量体を含む。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

30

40

【0330】

実施例13. Fc抗原結合ドメイン構築体11の設計および精製

分岐点がN末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体11（図11）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの4つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、2つのFcドメイン単量体を、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異（例えば、K409D/D399K変異）を有するFcドメイン単量体と直列に連続してN末端で含有し、この場合において各

50

F cドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S354CおよびT366W変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E357K）を導入することにより作製される、改変突起を有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K370D）を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、抗原結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

10

【0331】

実施例14．Fc抗原結合ドメイン構築体12の設計および精製

分岐点がN末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体12（図12）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの4つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、2つのFcドメイン単量体を、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異（例えば、K409D/D399K変異）を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有し、この場合において各Fcドメイン単量体は、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S354CおよびT366W変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E357K）を導入することにより作製される、改変突起を有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K370D）を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、抗原結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

20

30

【0332】

実施例15．Fc抗原結合ドメイン構築体13の設計および精製

分岐点がC末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体13（図13）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの2つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異（例えば、K409D/D399K変異）を有するFcドメイン単量体を、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S354CおよびT366W変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E357K）を導入することにより作製される改変突起を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異）、および任意に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K370D）を導入することによって作製される改変された空洞を有するFcドメイン単量体を含む。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコ

40

50

ードされる。発現されたタンパク質は、実施例 3 にあるように精製される。

【0333】

実施例 16. Fc 抗原結合ドメイン構築体 14 の設計および精製

分岐点が C 末端 Fc ドメインにある、単独分岐した Fc ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc 抗原結合ドメイン構築体 14 (図 14) は、2つの別個の Fc 単量体含有ポリペプチド (長鎖 Fc の 2つのコピーおよび短鎖 Fc の 2つのコピー) および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖 Fc は、N 末端で、表 3 から選択される少なくとも 1つの突起形成変異 (例えば、S354C および T366W 変異)、および任意に表 4A または 4B から選択される 1つ以上の逆電荷変異 (例えば、E357K) を導入することによって作製される改変された突起を有する Fc ドメイン単量体と直列に連続して、表 4A または 4B から選択される逆電荷変異 (K409D/D399K 変異) を有する Fc ドメイン単量体を含む。短鎖 Fc は、表 3 から選択される少なくとも 1つの空洞形成変異 (例えば、Y349C、T366S、L368A、および Y407V 変異)、および任意選択的に表 4A または 4B から選択される 1つ以上の逆電荷変異 (例えば、K370D) を導入することにより作製される改変空洞を有する Fc ドメイン単量体と、CD38 結合ドメインとを N 末端で含有する。DNA 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、p cDNA 3.4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNA プラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎 (HEK) 293 細胞にトランスフェクトされる。短鎖 Fc および長鎖 Fc のアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例 3 にあるように精製される。

10

20

【0334】

実施例 17. Fc 抗原結合ドメイン構築体 15 の設計および精製

分岐点が C 末端 Fc ドメインにある、単独分岐した Fc ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc 抗原結合ドメイン構築体 15 (図 15) は、2つの別個の Fc 単量体含有ポリペプチド (長鎖 Fc の 2つのコピーおよび短鎖 Fc の 2つのコピー) および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖 Fc は、表 4A または 4B から選択される逆電荷変異 (例えば、K409D/D399K 変異) を有する Fc ドメイン単量体を、表 3 から選択される少なくとも 1つの突起形成変異 (例えば、S354C および T366W 変異)、および任意選択的に表 4A または 4B から選択される 1つ以上の逆電荷変異 (例えば、E357K) を導入することにより作製される改変突起を有する Fc ドメイン単量体と、CD38 結合ドメインと直列に連続して N 末端で含有する。短鎖 Fc は、表 3 から選択される少なくとも 1つの空洞形成変異 (例えば、Y349C、T366S、L368A、および Y407V 変異)、および任意選択的に表 4A または 4B から選択される 1つ以上の逆電荷変異 (例えば、K370D) を導入することにより作製される改変空洞を有する Fc ドメイン単量体と、CD38 結合ドメインとを N 末端で含有する。DNA 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、p cDNA 3.4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNA プラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎 (HEK) 293 細胞にトランスフェクトされる。短鎖 Fc および長鎖 Fc のアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例 3 にあるように精製される。

30

40

【0335】

実施例 18. Fc 抗原結合ドメイン構築体 16 の設計および精製

分岐点が C 末端 Fc ドメインにある、単独分岐した Fc ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc 抗原結合ドメイン構築体 16 (図 16) は、2つの別個の Fc 単量体含有ポリペプチド (長鎖 Fc の 2つのコピーおよび短鎖 Fc の 4つのコピー) および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖 Fc は、表 4A または 4B から選択される逆電荷変異 (例えば、K409D/D399K 変異) を有する Fc ドメイン単量体を、表 3 から選択される少なくとも 1つの突起形成変異 (例えば、S354C および T366W 変異)、および任意選択的に表 4A または 4B から選択される 1つ以上の逆電荷変異 (例えば、E357K) を導入することにより作製される改変突起を各々有する 2つ

50

のFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異）、および任意に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K370D）を導入することによって作製される改変された空洞を有するFcドメイン単量体を含む。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

【0336】

10

実施例19．Fc抗原結合ドメイン構築体17の設計および精製

分岐点がC末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体17（図17）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの4つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、N末端で、各々が表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S354CおよびT366W変異）、および任意に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E357K）を導入することによって作製される改変された突起を有する、2つのFcドメイン単量体と直列に連続して、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異（K409D／D399K変異）を有するFcドメイン単量体を含む。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K370D）を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

20

【0337】

30

実施例20．Fc抗原結合ドメイン構築体18の設計および精製

分岐点がC末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体18（図18）は、2つの別個のFc単量体含有ポリペプチド（長鎖Fcの2つのコピーおよび短鎖Fcの4つのコピー）および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異（例えば、K409D／D399K変異）を有するFcドメイン単量体を、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異（例えば、S354CおよびT366W変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、E357K）を導入することにより作製される改変突起を各々有する2つのFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異（例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異）、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異（例えば、K370D）を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

40

【0338】

50

実施例 2 1. F c 抗原結合ドメイン構築体 1 9 の設計および精製

分岐点が N 末端または C 末端 F c ドメインのいずれにもない、単独分岐した F c ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。F c 抗原結合ドメイン構築体 1 9 (図 1 9) は、2 つの別個の F c 単量体含有ポリペプチド (長鎖 F c の 2 つのコピーおよび短鎖 F c の 4 つのコピー) および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖 F c は、表 3 から選択される少なくとも 1 つの突起形成変異 (例えば、S 3 5 4 C および T 3 6 6 W 変異)、ならびに任意選択的に表 4 A または 4 B から選択される 1 つ以上の逆電荷変異 (例えば、E 3 5 7 K) を導入することにより作製される改変突起を有する F c ドメイン単量体を、表 4 A または 4 B から選択される逆電荷変異 (例えば、K 4 0 9 D / D 3 9 9 K 変異) を有する F c ドメイン単量体と、表 3 から選択される少なくとも 1 つの突起形成変異 (例えば、S 3 5 4 C および T 3 6 6 W 変異) ならびに任意選択的に表 4 A または 4 B から選択される 1 つ以上の逆電荷変異 (例えば、E 3 5 7 K) を導入することにより作製される改変突起を有する別の F c ドメイン単量体と、C D 3 8 結合ドメインと直列に連続して N 末端で含有する。短鎖 F c は、表 3 から選択される少なくとも 1 つの空洞形成変異 (例えば、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V 変異)、および任意に表 4 A または 4 B から選択される 1 つ以上の逆電荷変異 (例えば、K 3 7 0 D) を導入することによって作製される改変された空洞を有する F c ドメイン単量体を含む。D N A 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、p c D N A 3. 4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。D N A プラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎 (H E K) 2 9 3 細胞にトランスフェクトされる。短鎖 F c および長鎖 F c のアミノ酸配列は、2 つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例 3 にあるように精製される。

10

20

【0 3 3 9】

実施例 2 2. F c 抗原結合ドメイン構築体 2 0 の設計および精製

分岐点が C 末端 F c ドメインにある、単独分岐した F c ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。F c 抗原結合ドメイン構築体 2 0 (図 2 0) は、2 つの別個の F c 単量体含有ポリペプチド (長鎖 F c の 2 つのコピーおよび短鎖 F c の 4 つのコピー) および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖 F c は、表 3 から選択される少なくとも 1 つの突起形成変異 (例えば、S 3 5 4 C および T 3 6 6 W 変異)、ならびに任意選択的に表 4 A または 4 B から選択される 1 つ以上の逆電荷変異 (例えば、E 3 5 7 K) を導入することにより作製される改変突起を有する F c ドメイン単量体を、表 4 A または 4 B から選択される逆電荷変異 (例えば、K 4 0 9 D / D 3 9 9 K 変異) を有する F c ドメイン単量体と、表 3 から選択される少なくとも 1 つの突起形成変異 (例えば、S 3 5 4 C および T 3 6 6 W 変異) ならびに任意選択的に表 4 A または 4 B から選択される 1 つ以上の逆電荷変異 (例えば、E 3 5 7 K) を導入することにより作製される改変突起を有する別の F c ドメイン単量体と直列に連続して N 末端で含有する。短鎖 F c は、表 3 から選択される少なくとも 1 つの空洞形成変異 (例えば、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V 変異)、および任意選択的に表 4 A または 4 B から選択される 1 つ以上の逆電荷変異 (例えば、K 3 7 0 D) を導入することにより作製される改変空洞を有する F c ドメイン単量体と、C D 3 8 結合ドメインとを N 末端で含有する。D N A 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、p c D N A 3. 4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。D N A プラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎 (H E K) 2 9 3 細胞にトランスフェクトされる。短鎖 F c および長鎖 F c のアミノ酸配列は、2 つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例 3 にあるように精製される。

30

40

【0 3 4 0】

実施例 2 3. F c 抗原結合ドメイン構築体 2 1 の設計および精製

分岐点が C 末端 F c ドメインにある、単独分岐した F c ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。F c 抗原結合ドメイン構築体 2 1 (図 2 1) は、2 つの別個の F c 単量体含有ポリペプチド (長鎖 F c の 2 つのコピーおよび短鎖 F c の 4

50

つのコピー) および軽鎖ポリペプチドを含有する。長鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異(例えば、S354CおよびT366W変異)、ならびに任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、E357K)を導入することにより作製される改変突起を有するFcドメイン単量体を、表4Aまたは4Bから選択される逆電荷変異(例えば、K409D/D399K変異)を有するFcドメイン単量体と、表3から選択される少なくとも1つの突起形成変異(例えば、S354CおよびT366W変異)ならびに任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、E357K)を導入することにより作製される改変突起を有する別のFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインと直列に連続してN末端で含有する。短鎖Fcは、表3から選択される少なくとも1つの空洞形成変異(例えば、Y349C、T366S、L368A、およびY407V変異)、および任意選択的に表4Aまたは4Bから選択される1つ以上の逆電荷変異(例えば、K370D)を導入することにより作製される改変空洞を有するFcドメイン単量体と、CD38結合ドメインとをN末端で含有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎(HEK)293細胞にトランスフェクトされる。短鎖Fcおよび長鎖Fcのアミノ酸配列は、2つの別個のプラスミドによってコードされる。発現されたタンパク質は、実施例3にあるように精製される。

10

【0341】

実施例24. Fc抗原結合ドメイン構築体によるCDC、ADCP、およびADCCの活性化

20

3つのアッセイを使用して、親mAbおよび様々なFc抗原結合ドメイン構築体による、CDC、ADCP、およびADCC経路の活性化を試験する。抗CD20 mAbであるガザイバ(オビヌツズマブ)由来のCDRを含有する4つの構築体を作製する。フコシル化および脱フコシル化抗CD20 mAbの両方、ならびにS3Y-AA-CD20(実施例2に記載されるような構築体13の構造、図13)およびSAI-AA-CD20(実施例1に記載されるような構築体7の構造、図7)のFc抗原結合ドメイン構築体を作製した。

【0342】

CDCアッセイを以下のとおり実施する。

30

1. 抗CD20 CDCアッセイにおいて使用される標的細胞は、Raji細胞(ATCC CCL-86)である。Raji細胞(CD20発現腫瘍細胞)を、X-VIVO 15培地中に 6×10^5 細胞/mlで再懸濁した。次いで、細胞を、96ウェルの平底アッセイプレートに、ウェル当たり100 μ lの体積(6×10^4 細胞/ウェル)で移した。

2. 抗CD20 mAbおよびFc抗原結合ドメイン構築体を、X-VIVO 15培地中で3.33 μ Mに希釈した。次いで、1.5mlポリプロピレンチューブ中で、各分子を用いて連続1:3希釈を行い、11点の希釈系列を得た。

3. 分子の各希釈を、アッセイプレート中の適切なウェルに50 μ l/ウェルで移した。アッセイプレートに移した直後に、50 μ lの正常なヒト血清補体を各ウェルに添加した。

40

4. アッセイプレートを37℃および5%CO₂で2時間インキュベートした。2時間インキュベーションした後、20 μ LのWST-1増殖試薬をアッセイプレートの各ウェルに添加した。プレートを37℃および5%CO₂のインキュベーターに14時間戻した。

5. 14時間のインキュベーション後、プレートを、プレート振盪器上で1分間振盪し、分光光度計を使用して、600nmの補正を用いて、450nmで直ちにウェルの吸光度を決定した。

標的細胞がRaji(図22、左のパネル)であるCDCアッセイにおいて、S3Y-AA-CD20(抗CD20 Fabを含む構築体13)は細胞傷害を介在することができ

50

たが、他の構築体はできなかった。

【0343】

A D C P アッセイを以下のとおり行った。

F c γ R I I a-H A D C P レポーターバイオアッセイのコンプリートキット (P r o m e g a 社カタログ番号 G 9 9 0 1) は、生物発光細胞系アッセイであり、これを使用して、F c γ R I I a に特異的に結合および活性化する抗体、ならびに F c ドメインを有する他の生物物質の効力および安定性を測定することができる。アッセイは、アミノ酸 1 3 1 位でヒスチジン (H) を含有する高アフィニティーヒト F c γ R I I a-H バリエーション、および N F A T-応答要素 (N F A T-R E) により駆動されるルシフェラーゼレポーターを発現する遺伝子改変 J u r k a t T 細胞株からなる。標的細胞と関連抗体を共培養した場合、F c γ R I I a-H エフェクター細胞は抗体の F c ドメインに結合した際に、F c γ R I I a シグナル伝達および N F A T-R E-介在性ルシフェラーゼ活性をもたらす。生物発光シグナルを、B i o-G l o (商標) ルシフェラーゼアッセイシステムおよび光度計を使用して検出および定量化した。上昇濃度の抗 C D 2 0 m A b および構築体 7 (抗 C D 2 0 F a b を含む) または構築体 1 3 (抗 C D 2 0 F a b を含む) を、R a j i 標的細胞および F c γ R I I a-H エフェクター細胞 (2 : 1 比) とともにインキュベートした。37℃で6時間インキュベートした後、B i o-G l o (商標) 試薬を添加し、発光を、P H E R A s t a r F S 測定器で測定した。データを、G r a p h P a d P r i s m ソフトウェアを使用して、4 P L 曲線に適合した (図 2 2、真ん中のパネル)。S 3 I-A A-C D 2 0 構築体 (抗 C D 2 0 F a b を含む構築体 7) と S 3 Y-A A-C D 2 0 構築体 (抗 C D 2 0 F a b を含む構築体 1 3) の両方が、抗 C D 2 0 m A b と比較して 1 0 0 倍超強化された効力 (E C 5 0) を示した。

【0344】

A D C C アッセイを以下のとおり行った。

ヒト初代 N K エフェクター細胞を、 5×10^5 /m L のリンパ球増殖培地-3 (L o n z a 社) 中に溶解し、37℃で一晩そのままの状態にした。翌日、R a j i 細胞を採取し、アッセイ培地 (フェノールレッド不含 R P M I、10% F B S、G l u t a M A X (商標)) 中に再懸濁させ、様々な濃度の対象の各分子の存在下で、37℃で30分間播種した。次いで、休ませた N K 細胞を採取し、アッセイ培地中に再懸濁させ、抗 C D 2 0 でコーティングされた R a j i 細胞を含有するプレートに添加した。プレートを、エフェクター細胞と標的細胞の最終比率 5 : 1 (5×10^4 N K 細胞 : 1×10^4 R a j i 細胞) で、37℃で6時間インキュベートした。

【0345】

C y t o T o x-G l o (商標) 細胞傷害性アッセイキット (P r o m e g a) を使用して、A D C C 活性を決定した。C y t o T o x-G l o (商標) アッセイは、発光性ペプチド基質を使用して、膜の完全性が失われた細胞、例えば溶解した R a j i 細胞によって放出される死細胞プロテアーゼ活性を測定する。6時間のインキュベーション期間後、調製された試薬 (基質) をプレートの各ウェルに添加し、オービタルプレート振盪機上に室温で15分間置いた。発光を、P H E R A s t a r F 5 プレートリーダー (B M G L a b t e c h) を使用して測定した。データを、対照条件 (N K 細胞 + R a j i のみ) からの読み取り値を試験条件からの読み取り値から差し引いて、バックグラウンドを除去した後に分析した。 (図 4 7、右のパネル)。S 3 I 構築体 (抗 C D 2 0 F a b を含む構築体 7) と S 3 Y 構築体 (抗 C D 2 0 F a b を含む構築体 1 3) の両方が、フコシル化 m A b と比較して強化された細胞傷害を示し、脱フコシル化 m A b と比較して同様の細胞傷害を示した。

【0346】

実施例 2 5. F c 抗原結合ドメイン構築体を特徴解析するために使用される実験的アッセイ

ペプチドおよびグリコペプチドの液体クロマトグラフィー-MS/MS

タンパク質を、6 M のグアニジン (S i g m a) 中で $1 \mu\text{g} / \mu\text{L}$ に希釈した。ジチオ

10

20

30

40

50

スレイトール (DTT) を濃度 10 mM まで加えて、65℃で30分間、変性条件下でジスルフィド結合を減らした。氷冷後、サンプルを、暗闇中で1時間、30 mMのヨードアセトアミド (IAM) とともにインキュベートして、遊離チオールをアルキル化 (カルバミドメチル化 (carbamidomethylation)) した。その後タンパク質を、10-kDa膜を介して25 mMの炭酸水素アンモニウム緩衝液 (pH 7.8) 中に透析し、IAM、DTTおよびグアニジンを除去した。タンパク質は、Barocycler (NEP 2320、Pressure Biosciences社) 中で、トリプシンで消化した。圧力は、37℃で、20,000 psiと周囲圧力との間を1時間に合計30サイクルで循環させた。ペプチドのLC-MS/MS分析は、Ultimate 3000 (Dionex) クロマトグラフィーシステムとQ-Exactiv (Thermo Fisher Scientific社) 質量分析計とで行った。ペプチドは、移動相として0.1% FA水溶液および0.1% FAアセトニトリル溶液を用いて、BEH PepMap (Waters社) カラムで分離した。±1.5 Daの四重極分離幅 (isolation width) を有する二重荷電イオン ($z=2$) m/z 842.5に基づいて、単独でキシロシル化されたリンカーペプチドを標的とした。

【0347】

インタクト質量分析

タンパク質を、78.98%水、20%アセトニトリル、1%ギ酸 (FA)、および0.02%トリフルオロ酢酸からなる泳動緩衝液 (running buffer) 中で2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ の濃度に希釈した。サイズ排除クロマトグラフィー分離を、直列に2.1×350 mm、合計カラム長700 mmの2つのZenix-C SEC-300 (Sepax Technologies, Newark, DE) 上で行った。タンパク質は、80 $\mu\text{L}/\text{分}$ の流量で、上記した移動緩衝液を用いてSECカラムから溶出した。質量スペクトルは、ポジティブモードで動作させたQSTAR Elite (Applied Biosystems社) Q-ToF質量分光計で取得した。個々のサイズ画分下の中性質量を、クロマトグラフィーピークの全幅にわたるスペクトルを合計することによって、ベイジックピークデコンボリューション (Bayesian peak deconvolution) を使用してデコンボリュートした。

【0348】

キャピラリー電気泳動ードデシル硫酸ナトリウム (CE-SDS) アッセイ

サンプルを1 mg/mLに希釈して、HTタンパク質発現変性緩衝液 (HT Protein Express denaturing buffer) (パーキンエルマー (PerkinElmer) 社) と混合した。混合物を40℃で20分間インキュベートした。サンプルを70 μL の水で希釈して、96ウェルプレートに移した。サンプルは、HT Protein Express LabChip (パーキンエルマー社) を備えたCaliper GXII機器 (パーキンエルマー社) で分析した。蛍光強度を用いて、各サイズの変異体の相対存在度を計算した。

【0349】

非還元SDS-PAGE

サンプルを、Laemmliサンプルバッファー (4% SDS、Bio-Rad社) 中で、95℃で10分間、変性させた。サンプルを、Criterion TGX stain-freeゲル (4~15%ポリアクリルアミド、Bio-Rad社) で電気泳動にかけた。タンパク質のバンドは、UV照射またはクマシーブルー染色で可視化した。Chemidoc MPイメージングシステム (Bio-Rad社) でゲルを画像化した。ImageLab 4.0.1ソフトウェア (Bio-Rad社) を用いて、バンドの定量化を行った。

【0350】

相補依存細胞毒性 (CDC)

CDCを、実施例24にすでに記載にしたように評価した。

【0351】

10

20

30

40

50

実施例 26. CD38 結合ドメインを含む Fc 抗原結合ドメイン構築体 4 の設計および精製

タンパク質発現

非対称直列 Fc ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製した。Fc 抗原結合ドメイン構築体 4 (CD38) は、各々、2つの別個の Fc ドメイン単量体含有ポリペプチド (長鎖 Fc (配列番号 66) および 3 コピーの抗 CD38 短鎖 Fc (配列番号 68)) と、3 コピーの抗 CD38 軽鎖ポリペプチド (配列番号 49) とを含む。長鎖 Fc は、直列に連続して 3 つの Fc ドメイン単量体を含有し、各 Fc ドメイン単量体は、E357K 電荷変異と、S354C および T366W 突起形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進するため) とを有する。短鎖 Fc は、K370D 電荷変異ならびに Y349C、T366S、L368A、および Y407V の空洞形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進する) を有する Fc ドメイン単量体と、抗 CD38 VH および CH1 ドメイン (EU の 1 ~ 220 位) とを N 末端で含有する (構築体 4 (CD38))。CD38 軽鎖はまた、scFv の一部として短鎖 Fc の N 末端に融合されて発現され得る。DNA 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNA プラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎 (HEK) 293 細胞にトランスフェクトされる。表 7 の各構築体に対する以下のアミノ酸配列は、3 つの別個のプラスミド (1 つのプラスミドは軽鎖 (抗 CD38) をコードし、1 つのプラスミドは長鎖 Fc をコードし、1 つのプラスミドは短鎖 Fc (抗 CD38) をコードする) によりコードされる。

【0352】

(表 7) 構築体 4 (CD38) 配列

10

20

構築体	軽鎖	長鎖Fc	短鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)
構築体 4 S3L (CD38)	配列番号 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTSSLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 DKHTCTPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPCRDKLTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGDKHTCTPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDKLTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGD KHTCTPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPCRDKLTKNQV SLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG	配列番号 EVQLLESQGGGLVQPGGS LRLSCAVSGFTFNSFAMS WVRQAPGKGLEWVSAIS GSGGGTTYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYFCAKDILWFGE PVFDYWGQGTSLTVTSSA STKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVPEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKNQVSLSCA VDGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

【0353】

発現したタンパク質を、Poros MabCapture A (Life Technologies 社) カラムを使用してプロテインA系のアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより、細胞培養上清から精製する。捕捉されたFc抗原結合ドメイン構築体を、リン酸緩衝生理食塩水で洗浄し(低塩洗浄)、100mMのグリシン(pH3)で溶出する。溶出液を1M TRIS(pH7.4)の添加によって素早く中和し、0.2μmフィルターに通して滅菌濾過した。Poros XS樹脂(Applied Biosciences 社)を使用したイオン交換クロマトグラフィーによりタンパク質をさらに分取する。カラムを50mMのMES(pH6)(緩衝液A)で予め平衡化し、試料を、50mMのMES、400mMの塩化ナトリウム(pH6)(緩衝液B)を溶出緩衝液として使用した段階勾配で溶出した。イオン交換後、標的画分を、接線流濾過システム上で10kDaカットオフポリエーテルスルホン(PES)膜カートリッジを使用してPBS緩衝液に緩衝液交換した。試料をおよそ30mg/mLに濃縮し、0.2μmフィルターに通して滅菌濾過する。

40

50

【0354】

実施例27. CD38結合ドメインを含むFc抗原結合ドメイン構築体8の設計および精製

タンパク質発現

分岐点があるN末端Fcドメインにある単独で分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製した。Fc抗原結合ドメイン構築体8（CD38）は、各々、2つの別個のFcドメイン単量体含有ポリペプチド（2コピーの長鎖Fc（配列番号69）および2コピーの抗CD38短鎖Fc（配列番号68））と、抗CD38軽鎖ポリペプチド（配列番号49）のコピーとを含む。長鎖Fcは、逆電荷変異K409DおよびD399K（ホモ二量体形成を促進するため）を有するFcドメイン単量体に直列に連続して、E357K電荷変異と、S354CおよびT366W突起形成変異（ヘテロ二量体形成を促進するため）とを有するFcドメイン単量体を含む。短鎖Fcは、K370D電荷変異ならびにY349C、T366S、L368A、およびY407Vの空洞形成変異（ヘテロ二量体形成を促進する）を有するFcドメイン単量体と、抗CD38 VHおよびCH1ドメイン（EUの1～220位）とをN末端で含有する（構築体8（CD38））。CD38軽鎖はまた、scFvの一部として短鎖FcのN末端に融合されて発現され得る。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pCDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされる。表8の各構築体に対する以下のアミノ酸配列は、3つの別個のプラスミド（1つのプラスミドは軽鎖（抗CD38）をコードし、1つのプラスミドは長鎖Fcをコードし、1つのプラスミドは短鎖Fc（抗CD38）をコードする）によりコードされる。

【0355】

（表8）構築体8（CD38）配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc	短鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)
構築体8 (CD38)	配列番号 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRTGIPARF SGSGSGTDFLTISSEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSIVTLVHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLKSD GSFFLYSDLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGKGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVY LPPCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG	配列番号 EVQLLESQGGGLVQPGGSG LRLSCAVSGFTFNSFAMS WVRQAPGKGLEWVSAIS GSGGGTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYFCAKDILWFGE PVFDYWGQGTLLTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVPEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK KDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVY LPPCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG

【0356】

発現されたタンパク質を、Poros MabCapture A (Life Technologies 社) カラムを使用したプロテインA系のアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより細胞培養上清から精製する。捕捉されたFc抗原結合ドメイン構築体を、リン酸緩衝生理食塩水で洗浄し(低塩洗浄)、100mMのグリシン(pH3)で溶出する。溶出液を1M TRIS (pH7.4)の添加によって素早く中和し、0.2µm フィルターに通して滅菌濾過する。Poros XS樹脂(Applied Biosciences 社)を使用したイオン交換クロマトグラフィーによりタンパク質をさらに分取する。カラムを50mMのMES (pH6) (緩衝液A)で予め平衡化し、試料を、50mMのMES、400mMの塩化ナトリウム(pH6) (緩衝液B)を溶出緩衝液として使用した段階勾配で溶出する。イオン交換後、標的画分を、接線流濾過システム上で10kDaカットオフポリエーテルスルホン(PES)膜カートリッジを使用してPBS緩衝液に緩衝液交換する。試料をおよそ30mg/mLに濃縮し、0.2µm フィルターに通して滅菌濾過する。

10

【0357】

実施例28. CD38結合ドメインを含むFc抗原結合ドメイン構築体9の設計および精製

タンパク質発現

分岐点がN末端Fcドメインにある単独で分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製した。Fc抗原結合ドメイン構築体9(CD38)は、2つの別個のFcドメイン単量体含有ポリペプチド(2コピーの抗CD38長鎖Fc(配列番号54)および2コピーの抗CD38短鎖Fc(配列番号68))と、抗CD38軽鎖ポリペプチド(配列番号49)のコピーとを含む。長鎖Fcは、E357K電荷変異ならびにS354CおよびT366W突起形成変異(ヘテロ二量体形成を促進する)を有するFcドメイン単量体を、逆電荷変異K409DおよびD399K(ホモ二量体形成を促進する)を有するFcドメイン単量体と、抗CD38 VHおよびCH1ドメイン(EUの1~220位)と直列に連続してN末端で含有する(構築体9(CD38))。短鎖Fcは、K370D電荷変異ならびにY349C、T366S、L368A、およびY407Vの空洞形成変異(ヘテロ二量体形成を促進する)を有するFcドメイン単量体と、抗CD38重鎖とをN末端で含有する(構築体9(CD38))。CD38軽鎖はまた、s c Fvの一部として長鎖Fcおよび/または短鎖FcのN末端に融合されて発現され得る。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎(HEK)293細胞にトランスフェクトされた。表9の各構築体に対する以下のアミノ酸配列は、3つの別個のプラスミド(1つのプラスミドは軽鎖(抗CD38)をコードし、1つのプラスミドは長鎖Fc(抗CD38)をコードし、1つのプラスミドは短鎖Fc(抗CD38)をコードする)によりコードされた。

20

30

【0358】

(表9) 構築体9(CD38)配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)	短鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)
構築体 9 S3A (CD38)	配列番号 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFLTISSEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 EVQLLES GGGLVQPGGSL RLSCAVSGFTFNSFAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGS GGGTYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYFCAKDILWFGPEPVF DYWGQGTLLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPV LKSDGSFFLYSDLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGG GGGGGGGGGGGGGGGGG GGDKHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDKLTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG	配列番号 EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGGTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGPEPVFDYWGQGTLLTV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTEVT CVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAIEKTISKAK GQPREPQVCTLPSPSRDELTK NQVSLSCAVDGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDS SDGSFFLYSKLTVDKSRWQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

10

20

30

40

【0359】

実施例 29. CD38 結合ドメインを含む Fc 抗原結合ドメイン構築体 10 の設計および精製

タンパク質発現

分岐点が N 末端 Fc ドメインにある、単独分岐した Fc ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc 抗原結合ドメイン構築体 10 (CD38) は、各々、2つの別個の Fc ドメイン単量体含有ポリペプチド (2 コピーの抗 CD38 長鎖 Fc (配列番号 71) および 4 コピーの短鎖 Fc (配列番号 63)) と、抗 CD38 軽鎖ポリペプチド (配列番号 49) のコピーとをそれぞれ含む。長鎖 Fc は、2つの Fc ドメ

50

イン単量体を直列に連続して含有し、ここで各Fcドメイン単量体は、E357K電荷変異ならびにS354CおよびT366Wの突起形成変異（ヘテロ二量体形成を促進する）を有し、逆電荷変異K409DおよびD399K（ホモ二量体形成を促進する）を有するFcドメイン単量体と、抗CD38 VHおよびCH1ドメイン（EUの1～220位）と直列で連続してN末端で含有する（構築体10（CD38））。短鎖Fcは、K370D電荷変異、ならびにY349C、T366S、L368A、およびY407V空洞形成変異（ヘテロ二量体形成を促進するため）を含有する。抗CD38軽鎖はまた、scFvの一部として長鎖FcのN末端に融合されて発現され得る。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293細胞にトランスフェクトされた。表10の各構築体に対する以下のアミノ酸配列は、3つの別個のプラスミド（1つのプラスミドは軽鎖（抗CD38）をコードし、1つのプラスミドは長鎖Fc（抗CD38）をコードし、1つのプラスミドは短鎖Fcをコードする）によりコードされた。

【0360】

（表10）構築体10（CD38）配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1)	短鎖Fc
構築体10 (CD38)	配列番号 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQKPG QAPRLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTSSLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 71 EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGGTY YADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEPVFDYWGQGTLLT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVT SWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVPEK	配列番号 63 DKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSC AVDGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGS

		SCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLKSD GSFFLYSDLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTL PCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGKGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDG EVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPCR DKLTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSV MHEALHNHYTQKSLSLSP G	FFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

10

20

30

【0361】

発現されたタンパク質を、Poros MabCapture A (Life Technologies 社) カラムを使用したプロテインA系のアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより細胞培養上清から精製した。捕捉されたFc抗原結合ドメイン構築体を、リン酸緩衝生理食塩水で洗浄し(低塩洗浄)、100mMのグリシン(pH3)で溶出した。溶出液を1M TRIS (pH7.4)の添加によって素早く中和し、0.2μm フィルターに通して滅菌濾過する。Poros XS樹脂(Applied Biosciences 社)を使用したイオン交換クロマトグラフィーによりタンパク質をさらに分取する。カラムを50mMのMES (pH6) (緩衝液A)で予め平衡化し、試料を、50mMのMES、400mMの塩化ナトリウム(pH6) (緩衝液B)を溶出緩衝液として使用した段階勾配で溶出する。イオン交換後、標的画分を、接線流濾過システム上で10kDaカットオフポリエーテルスルホン(PES)膜カートリッジを使用してPBS緩

40

50

衝液に緩衝液交換する。試料をおよそ 30 mg/mL に濃縮し、0.2 μm フィルターに通して滅菌濾過する。

【0362】

実施例 30. CD38 結合ドメインを含む Fc 抗原結合ドメイン構築体 16 の設計および精製

タンパク質発現

分岐点が C 末端 Fc ドメインにある、単独分岐した Fc ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc 抗原結合ドメイン構築体 16 (CD38) は、各々、2つの別個の Fc ドメイン単量体含有ポリペプチド (2 コピーの抗 CD38 長鎖 Fc (配列番号 73) および 4 コピーの短鎖 Fc (配列番号 63)) と、3 コピーの抗 CD38 軽鎖ポリペプチド (配列番号 49) とをそれぞれ含む。長鎖 Fc は、逆電荷変異 K409D および D399K (ホモ二量体形成を促進する) を有する Fc ドメイン単量体を、2つの Fc ドメイン単量体 (各々が、E357K 電荷変異ならびに S354C および T366W 突起形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進する) を有する) と、抗 CD38 VH および CH1 ドメイン (EU の 1~220 位) と直列に連続して含有する (構築体 10 (CD38))。短鎖 Fc は、K370D 電荷変異、ならびに Y349C、T366S、L368A、および Y407V 空洞形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進するため) を含有する。抗 CD38 軽鎖はまた、scFv の一部として長鎖 Fc の N 末端に融合されて発現され得る。DNA 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNA プラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎 (HEK) 293 細胞にトランスフェクトされる。表 11 の各構築体に対する以下のアミノ酸配列は、3つの別個のプラスミド (1つのプラスミドは軽鎖 (抗 CD38) をコードし、1つのプラスミドは長鎖 Fc (抗 CD38) をコードし、1つのプラスミドは短鎖 Fc をコードする) によりコードされる。

【0363】

(表 11) 構築体 16 (CD38) 配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)	短鎖Fc
構築体 16 S5Y (CD38)	配列番号 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRTGIPARF SGSGSGTDFLTISSEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK	配列番号 73 EVQLLES GGGVLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGGTY YADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK	配列番号 63 DKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPRE

40

50

発現されたタンパク質を、Poros MabCapture A (Life Technologies 社) カラムを使用したプロテインA系のアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより細胞培養上清から精製する。捕捉されたFc抗原結合ドメイン構築体を、リン酸緩衝生理食塩水で洗浄し（低塩洗浄）、100mMのグリシン（pH3）で溶出する。溶出液を1M TRIS（pH7.4）の添加によって素早く中和し、0.2μm フィルターに通して滅菌濾過する。Poros XS樹脂（Applied Biosc

i e n c e s 社) を使用したイオン交換クロマトグラフィーによりタンパク質をさらに分取する。カラムを 50 mM の M E S (p H 6) (緩衝液 A) で予め平衡化し、試料を、50 mM の M E S 、 400 mM の塩化ナトリウム (p H 6) (緩衝液 B) を溶出緩衝液として使用した段階勾配で溶出する。イオン交換後、標的画分を、接線流過システム上で 10 k D a カットオフポリエーテルスルホン (P E S) 膜カートリッジを使用して P B S 緩衝液に緩衝液交換する。試料をおよそ 30 m g / m L に濃縮し、0.2 μ m フィルターに通して滅菌濾過する。

【0365】

実施例 31. C D 38 結合ドメインを含む F c 抗原結合ドメイン構築体 19 の設計および精製

10

タンパク質発現

分岐点が C 末端 F c ドメインにも N 末端 F c ドメインにもない単独で分岐した F c ドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製した。F c 抗原結合ドメイン構築体 19 (C D 38) は、2つの別個の F c ドメイン単量体含有ポリペプチド (2 コピーの抗 C D 38 長鎖 F c (配列番号 75) および 4 コピーの短鎖 F c (配列番号 63)) と、抗 C D 38 軽鎖ポリペプチド (配列番号 49) のコピーとをそれぞれ含む。長鎖 F c は、E 357 K の電荷変異ならびに S 354 C および T 366 W の突起形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進する) を有する F c ドメイン単量体を、逆電荷変異 K 409 D および D 399 K (ホモ二量体形成を促進する) を有する F c ドメイン単量体と直列に連続して、E 357 K 電荷変異ならびに S 354 C および T 366 W 突起形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進する) を有する F c ドメイン単量体と、抗 C D 38 V H および C H 1 ドメイン (E U の 1 ~ 220 位) と直列に連続して N 末端で含有する (構築体 19 (C D 38)) 。短鎖 F c は、K 370 D 電荷変異、ならびに Y 349 C 、 T 366 S 、 L 368 A 、および Y 407 V 空洞形成変異 (ヘテロ二量体形成を促進するため) を含有する。抗 C D 38 軽鎖はまた、s c F v の一部として長鎖 F c の N 末端に融合されて発現され得る。D N A 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、p c D N A 3.4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。D N A プラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎 (H E K) 293 細胞にトランスフェクトされた。表 12 の各構築体に対する以下のアミノ酸配列は、3つの別個のプラスミド (1つのプラスミドは軽鎖 (抗 C D 38) をコードし、1つのプラスミドは長鎖 F c (抗 C D 38) をコードし、1つのプラスミドは短鎖 F c

20

30

【0366】

(表 12) 構築体 19 (C D 38) 配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)	短鎖Fc
構築体 19 S5X (CD38)	配列番号 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQKPG QAPRLIYDASNRAITGIPARF SGSGSGTDFTLTISLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGGTY YADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEPVFDYWGQGTLLT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSVSTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDKLT NQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPCRDKLT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	配列番号 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSSRDELTKN QVSLSCAVDGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG

10

20

30

40

【0367】

実施例 3.2. ヒト腫瘍細胞株ならびにヒトおよびマウス由来の CD38 を発現する安定細胞株への抗 CD38 構築体の結合

10% FBS を含有する培地中の腫瘍細胞懸濁液を、上昇濃度の V i v o T a g 6 4 5

50

で標識付けされた抗CD38抗体とともに4℃で1時間インキュベートした。次いで、細胞を冷たい緩衝液中で洗浄し、FACS緩衝液中に懸濁した。次いで、標識付けされた細胞懸濁液を、BD FACS Verseフローサイトメーター上でAPCチャンネルにおいて読み取った。生細胞群を、標識付けされていない細胞を使用してゲートした。幾何平均蛍光強度 (gMFI) 値を、FlowJoソフトウェアを使用して、ゲートされた群から計算した。この分析の結果を図25に提示する。

【0368】

Raji細胞を使用して、親IgG1抗CD38抗体と対応する抗CD38構築体の用量依存性相対結合を評価した。抗CD38 mAb (これは、様々な抗CD38 Fc構築体に対するFabの源であった) はサルCD38と交差反応しないため、カニクイザルCD38 (S1A-AA-Cyno CD38) と反応する代替抗CD38ヒトモノクローナルIgG1抗体、および同じFab配列を使用してカニクイザルCD38 (S3Y-AA-Cyno CD38) と反応する代替抗CD38構築体13を生成し、これをカニクイザル血清補体の存在下でのCDC活性、および非ヒト霊長類全血における標的化内在性カニクイザルCD38の薬力学的応答を評価するために使用した。これらの結合研究の結果を図26に提示する。

【0369】

実施例33. 抗CD38構築体のCDC活性

CD38発現腫瘍細胞株 (DaudiおよびRaji) の細胞致死を促進する抗CD38抗体および抗CD38 Fc構築体の活性を、インビトロでのCDCアッセイにより評価した。ヒト血清補体を補体源として使用した。0.1% BSAを含有するRPMI-1640培地を、細胞懸濁液、抗体、および血清希釈を調製するための緩衝液として使用した。最初に、CD38陽性腫瘍細胞を緩衝液中で洗浄し、 10^6 細胞/mlの密度で再懸濁した。典型的なアッセイでは、50 μ lの抗体または抗CD38 Fc構築体、50 μ lの希釈補体 (5倍希釈)、および50 μ lの細胞懸濁液 (50,000細胞/ウェル) を、平底組織培養96ウェルプレートに添加した。次いで、混合物を、5% CO₂ インキュベーター中で37℃で2時間インキュベートして、補体介在性細胞溶解を促進した。次いで、50 μ lのアラマブルーを各ウェルに添加し、37℃で18時間インキュベートした。蛍光を、96ウェルの蛍光光度計を使用して読み取り、励起は530nm、放射は590nmであった。

【0370】

アッセイを、ヒト血清補体またはcyno血清補体の存在下でDaudi細胞およびRaji細胞を用いて実施して、抗CD38 mAbまたは抗CD38構築体のいずれかによって誘発された反応性CDC介在性腫瘍細胞溶解を評価した。表13に提示される結果は、生存可能な細胞の数に比例する相対蛍光単位 (RFU) で表される。様々な変異の活性を、Ab濃度 (アラマブルーの添加前の最終濃度) の対数に対するCDC活性パーセントをプロットすることにより検査した。CDC活性パーセントを以下のとおり計算した。CDC活性% = (RFU試験 - RFUバックグラウンド) $\times$ 100 (総細胞溶解でのRFU - RFUバックグラウンド)。値は、例示的な実験からの平均 $\pm$ SD (n=3つの別個の実験から) を表す。この研究は、抗CD38構築体が、抗CD38 mAb-CDC感受性細胞 (Daudi) において、ならびに抗CD38 mAb-CDC耐性細胞 (Raji) において、抗CD38 mAbより大きな効能 (最大腫瘍細胞致死) および効力を示すことを示す。抗CD38 mAb感受性または耐性という用語は、CDCアッセイに基づく細胞における抗CD38 mAb介在性標的細胞溶解に対する感受性または耐性を指す。

【0371】

(表13) Daudi細胞およびRaji細胞におけるCD38構築体のCDC活性

10

20

30

40

	Daudi 細胞			Raji 細胞	
治療	最大溶解%	EC50 nM	EC50、抗CD38 mAb に対する倍率変化	最大溶解%	最大溶解%、抗CD38 mAb に対する倍率変化
抗CD38 mAb	100	0.7749	1.00	14.7	1.00
構築体13 S3Y-AA-CD38	100	0.0725	10.685	92.1	6.28
構築体7 S3I-AA-CD38	100	0.1960	3.954	15.5	1.06
構築体9 S3A-AA-CD38	100	0.0372	20.831	39.9	2.72
構築体19 S5X-AA-CD38	100	0.0993	7.801	83.3	5.67

10

20

¹ 別段の記載がない限り、すべての構築体はG20リンカーを含んだ。

【0372】

カニクイザルCD38交差反応性抗CD38構築体13（S3Y-AA-Cyno CD38）は、感受性腫瘍細胞と耐性腫瘍細胞の両方において、CDCの誘発において、対応するmAb（S1A-AA-Cyno（抗Cyno CD38 mAb）より有意に高い効力および効能を示した。このアッセイを上記と同様の様式で実施したが、ただし、Daudi腫瘍細胞とサル血清補体（図27、パネルA）、Raji腫瘍細胞とサル血清補体（図27、パネルB）、Daudi腫瘍細胞とヒト血清補体（図27、パネルC）、Raji腫瘍細胞とヒト血清補体（図27、パネルD）を使用した。これらの構築物のCDC活性は表14に提示され、Daudi細胞およびRaji細胞に対するCDCの誘発におけるS3Y-AA-Cyno CD38の効能および効力において、S1A-AA-Cyno（抗Cyno CD38 mAb）を超える有意な強化を示す。

30

【0373】

（表14）Daudi細胞およびRaji細胞におけるカニクイザルCD38反応性構築体のCDC活性

	Daudi 細胞			Raji 細胞	
治療 (cyno血清補体の 存在下で)	最大 溶解%	EC50 nM	EC50、S1A-AA-Cyno に対する倍率変化	最大 溶解%	最大溶解%、 S1A-AA-Cynoに対する 倍率変化
S1A-AA-Cyno	78.62	0.9593		12.76	
構築体13 S3Y-AA-Cyno	97.84	0.1486	6.46	92.78	7.27
治療 (ヒト血清補体の 存在下で)	最大 溶解%	EC50 nM	EC50、S1A-AA-Cyno に対する倍率変化	最大 溶解%	最大溶解%、 S1A-AA-Cynoに対する 倍率変化
S1A-AA-Cyno	67.96	0.6301		12.7	
構築体13 S3Y-AA-Cyno	102.4	0.1547	4.07	100.6	7.92

10

【0374】

実施例34. 抗CD38 Fc構築体による抗体依存性細胞貪食(ADCP)活性化

20

単核細胞をヒト全血から単離し、それらを6ウェルプレート中でヒトM-CSFおよびIL-10で処置することによってマクロファージに分化させた。次いで、これらの接着マクロファージを、その後アッセイウェルに播種するために冷却PBS+2mMのEDTAを使用して分離した。2×10⁵つのマクロファージを、96ウェル平底プレート中、2%の超低FBSを含有するRPMI-1640培地中に播種した。プレートを、短時間遠心分離し、37℃で1時間インキュベートして、マクロファージを96ウェルプレートの底部に接着した。Raji腫瘍細胞を、カルセインAMを用いて染色し、続いて抗CD38 mAbまたは様々な抗CD38構築体の連続希釈の存在下で、エフェクター(マクロファージ):標的(腫瘍細胞)比3:1で、マクロファージ含有プレート上に添加した。次いで、プレートを、CO₂インキュベーター中で、37℃で2時間インキュベートした。上清を、V底96ウェルプレートに収集した。接着細胞を、2mMのEDTAを含有する冷却PBSを用いて分離することにより収集した。上清からの細胞および分離した接着細胞を、一緒にプールした。次いで、これらの細胞を、抗CD11b APCおよびCD19 BV421抗体を用いて、これらの抗体を4℃で1時間インキュベートすることによって染色した。標識付けされた細胞懸濁液を、FACS Verseフローサイトメーター上で読み取った。表面CD19染色に対して陰性である二重陽性マクロファージ(CD11b+/カルセインAM+)を、貪食事象とみなした。表15の結果は、初代ヒトマクロファージによるオプソニン化Raji細胞の貪食の誘発における抗CD38構築体の優れた効力を示す。

30

【0375】

40

(表15) ADCPアッセイにおける抗CD38 Fc構築体の効力

構築体 番号 ¹	n	EC50 (nM)		
		範囲	平均	SD
抗CD38 mAb	2	0.14-0.08	0.11	0.045
S3Y-AA-CD38 構築体 13	2	0.1-0.03	0.069	0.05
S3A-AA-CD38 構築体 9	2	0.034-0.028	0.031	0.004
S5X-AA-CD38 構築体 19	2	0.02-0.04	0.03	0.011

¹ 別段の記載がない限り、すべての構築体はG20リンカーを含んだ。

【0376】

実施例35. 抗CD38 Fc構築体による抗体依存性細胞介在性細胞傷害(ADCC)活性化

Raji細胞を、96ウェルプレート中、ウェル当たり50μLの培地当たり5000個の細胞の濃度で、10%の超低IgG FBSを含有するRPMI培地中に懸濁した。次いで、試料を、上昇濃度の抗体および構築体(10μL/ウェル)とともに25℃で15分間インキュベートした。初代ヒトNK細胞(エフェクター細胞)を、エフェクター対標的比5:1で添加した。次いで、エフェクター細胞と標的細胞の混合物を、5%CO₂インキュベーター中で、37℃で5時間インキュベートした。Cytotox Glo試薬(50μL)を添加し、プレートを25℃で15分間インキュベートして、死細胞と標識付けした。次いで、試料をPherastar光度計上で読み取り、死細胞からの発光シグナルを測定した。結果は、ADCCの誘発におけるS3Y(構築体13)分子の抗CD38 mAbより5~7倍高い効力を示した。表15に示されるように、抗CD38構築体13は、Raji腫瘍細胞に対する初代ヒトNK細胞介在性ADCCの誘発において、抗CD38 mAbより優れた効力を示した。標的細胞およびエフェクター細胞を、薬物分子を用いて37℃で5時間処置し、続いてCytotox Gloによって死細胞を検出した。アッセイ対照、自発的放出対照(標的細胞のみ)；抗体を含まない対照；NK細胞のみ+抗体；IgGkアイソタイプ対照

【0377】

(表15) ADCCアッセイにおける抗CD38 Fc構築体の効力

構築体 番号 ¹	n	EC50 (nM)		
		範囲	平均	SD
抗CD38 mAb	2	0.013-0.003	0.01567	0.007541
S3Y-AA-CD38 構築体 13 G ₂₀ リンカー	2	0.0019-0.0006	0.0012	0.0009

【0378】

実施例36：ヒト全血における抗CD38構築体による腫瘍細胞致死

Daudi細胞を、50 μ lの培地(RPMI-1640+10%の超低IgG FBS)中に懸濁し、96ウェルプレートの各ウェルに播種した。50 μ Lのヒト全血またはACK溶解ヒト全血細胞(血清およびRBCを含まない)を、腫瘍細胞懸濁液に添加した。これに続いて、50 μ Lの抗体および抗CD38構築体希釈(RPMI-1640培地+10%FBS中)を添加した。試料を混合し、次いで、CO₂インキュベーター中で、37℃で4時間インキュベートした。インキュベート後、残存する生Daudi細胞を、50 μ lの新たに調製されたルシフェリン溶液(ストック濃度、50mg/mL)を添加することにより評価した。次いで、プレートを、プレート振とう器上に5分間置いた。生Daudiルシフェラーゼ細胞から放射された発光を、Pherastar光度計を使用して読み取った。

10

【0379】

図28に提示される結果は、抗CD38構築体13(S3Y-AA-CD38)が3人の別個のドナーから回収されたヒト全血における標的細胞致死において抗CD38 mAbより10倍～36倍強力であることを示唆する。しかしながら、RBC溶解および洗浄された全血では、腫瘍細胞枯渇は抗CD38 mAbまたは抗CD38構築体では観察されなかった。RBC溶解および洗浄されたヒト全血細胞を同じドナーから調製された自家血清で補充することにより、腫瘍細胞枯渇を回復し、全血における抗CD38 mAbおよび抗CD38構築体誘発型腫瘍細胞致死の促進における血清タンパク質の役割を示唆した。

20

【0380】

実施例37：サル全血からの内在性CD38発現B細胞の枯渇

Cyno全血を、VivoTag645で標識付けされた分子(SIF1、IgGアイソタイプ対照、S1A-AA-Cyno-001(抗cyno CD38 mAb)、抗cyno CD38構築体13 S3Y-AA-Cyno-001)の各々の連続希釈と別個に、細胞表面マーカー抗体カクテルとともに混合した。次いで、血液試料を、細胞表面結合を決定するために4℃で30分間インキュベートするか、または細胞枯渇における処置の効果を決定するためにCO₂インキュベーター中で37℃で3時間別個にインキュベートするかのいずれかを行った。これらの処置の後、試料を冷たい塩化アンモニア溶液と混合することによりRBCを溶解した。次いで、試料を洗浄し、1%のパラホルムアルデヒドを含有する緩衝液中に再懸濁し、翌日、FACS分析を実施した。CD38+B細胞群を、CD38結合および結合頻度データに基づいて評価した。CD38+B細胞型の頻度を測定して、構築体分子を用いた3時間の処置に起因する枯渇を決定した。B細胞枯渇を、用量依存性の様式で、抗CD38構築体13(S3Y-AA-Cyno-001)について用量10nM(1Log nM)以上で観察した。枯渇は、100～1000nM(2～3Log nM)で出現し始める。抗cyno CD38 mAb(S1A-AA-Cyno-001)と比較して、抗cyno CD38構築体13(S3Y-AA-Cyno-001)でより大きな枯渇を観察した。

30

【0381】

実施例38：インビボでのリンパ腫モデル

疾患進行に対する薬剤の効果および治療応答を、ヒトリンパ腫の皮下腫瘍モデルにおいて、腫瘍体積測定により評価した。CB17-重症複合型免疫不全(SCID)マウス(メス、6～7週齢、平均体重20グラム、Charles River Laboratoriesの系統236)を、Momenta実験動物飼養施設内に48時間収容した後、IACUCプロトコルに従って使用した。水と食物は不断に与えた。すべての実験は、機関の実験動物倫理委員会により承認された。マウスを、不快感の兆候および全身外観について毎日チェックした。皮下腫瘍異種移植モデルについて、高濃度マトリゲル中に懸濁された5 $\times$ 10⁶つのヒトパーキットリンパ腫Raji細胞を、マウスの右脇腹に皮下注射した。腫瘍体積を、腫瘍がおよそ250mm³に到達するまで(およそ6～7日目まで

40

50

）週 2 回測定し、その時点でマウスを処置群（8 匹のマウス／群）に割り当てた。3 つすべての群のマウスに、処置の 1 日前、静脈内処置注射（PBS、抗 CD 38 mAb、または S 3 Y-A A-C D 3 8）の直前、および処置の 1 日後、0.5 mL の正常なヒト血清補体を腹腔内注射した。体重および腫瘍体積を週 2 回記録した。体積が 2000 mm^3 に近づくと、腫瘍を毎日測定した。すべての動物を毎日観察し、病気のマウスは I A C U C プロトコルに従って安楽死させた。図 30 に示される結果は、ヒト血清補体の存在下で処置が施された場合、このヒトリンパ腫マウスモデルにおいて、抗 CD 38 構築体 1 3（S 3 Y-A A-C D 3 8）が抗 CD 38 mAb より有効であることを示唆する。

【0382】

実施例 39：構築体中の Fc ドメインは、抗体中の Fc ドメインと同様の Fc ガンマ受容体への結合を保持する

抗 CD 20 および抗 CD 38 構築体を利用して、ホモ二量体形成変異、ヘテロ二量体形成変異、ポリペプチドリンカー、および Fab ドメインの様々な組み合わせが Fc ガンマ受容体への結合に影響を及ぼしたかどうかを評価した。表面プラズモン共鳴（SPR）を利用して、CD 64（Fc ガンマ受容体 I）への 1：1 結合を評価した。これらの構築体をチップ表面上に捕捉し、可溶性受容体への結合を測定して、1：1 結合を確実にした。この形式では、結合価は、Fc 機能の変化に最も敏感な読み取り値であり、速度定数および平衡定数は、Fc ドメインのサブセットの変化に鈍感である。

【0383】

細胞培養

DNA 配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA 3.4 哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNA プラスミド構築体はリボソームを介して、ヒト胎生腎（HEK）293 細胞にトランスフェクトされた。抗体を 2 つの異なるプラスミド（1 つのプラスミドが重鎖をコードし、第 2 のプラスミドが軽鎖をコードした）から発現させた。SIF ボディを 3 つの別個のプラスミド（多くの場合、1 つのプラスミドが抗体軽鎖をコードし、1 つのプラスミドがアミノ末端 Fc に結合した CH1-VH FAB 部分を含むプラスミド長鎖 Fc をコードし、第 3 のプラスミドが短鎖 Fc をコードした）から発現させた。S3A Sif ボディおよび S3W Sif ボディは例外であった。S3W の場合、1 つのプラスミドが抗体軽鎖をコードし、第 2 のプラスミドが 2 つの Fc ドメインを含む長鎖をコードし、第 3 のプラスミドが CH1-VH FAB 部分を含む単一の Fc 鎖をコードした。S3A の場合、1 つのプラスミドが抗体軽鎖をコードし、第 2 のプラスミドがアミノ末端 Fc に結合した CH1-VH FAB 部分を含む長鎖 Fc をコードし、1 つのプラスミドが同様に CH1-VH FAB 部分を含む短鎖 Fc をコードした。

【0384】

タンパク質精製

発現したタンパク質を、Poros Mab Capture A カラムを用いて、プロテイン A 系のアフィニティークロマトグラフィーによって細胞培養上清から精製した。装填後に捕捉した SIF ボディ構築体をリン酸緩衝生理食塩水（PBS、pH 7.0）で洗浄し、中間洗浄緩衝液である 50 mM のクエン酸緩衝液（pH 5.5）でさらに洗浄して、追加のプロセス関連不純物を除去した。結合した SIF ボディ物質を 100 mM のグリシン（pH 3）で溶出し、溶出液を 1 M TRIS（pH 7.4）の添加により素早く中和し、その後、遠心分離し、0.2 μm のフィルターに通して滅菌濾過した。タンパク質は、Poros XS 樹脂を用いて、イオン交換クロマトグラフィーによってさらに分取した。カラムは、50 mM の MES、pH 6（緩衝液 A）で予め平衡化して、サンプルは、ロードのために平衡用緩衝液で希釈した（1：3）。溶離緩衝液として 50 mM の MES（100% A）から、400 mM の塩化ナトリウム、pH 6（100% B）の 12～15 CV の線形勾配を使用して、サンプルを溶離した。溶出中に収集したすべての画分を分析用サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）により分析し、標的画分をプールして、精製された SIF ボディ物質を得た。

【0385】

イオン交換の後、プールされた材料を、接線流濾過システム上で、30 kDaをカットオフするポリエーテルスルホン（PES）膜カートリッジを使用して、1倍PBS緩衝液に緩衝液交換した。サンプルをおよそ10～15 mg/mLに濃縮して、0.2 μmフィルターを通して滅菌濾過した。

【0386】

物理化学的分析

分析用サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）を、ポストプロテインA、プールされたイオン交換画分、および精製された最終物質の純度評価に使用した。

【0387】

精製された物質を、1倍PBSを使用して1 mg/mLに希釈し、Zenix SEC-300（4.6×300 mm、3 μm、300 Å、Sepax、カタログ番号213300-4630）を分析カラムとして使用して、UV&FLD検出器を備えたAgilent 1200システムで分析した。

【0388】

カラムを、分析前に0.3 mL/分で1時間、0.05 w/v%のアジ化ナトリウム緩衝液を用いて、100 mMのリン酸ナトリウム、200 mMのアルギニン、300 mMの塩化ナトリウム（pH 6.7）で平衡化した。注入量はおよそ10～15 μLであり、カラム温度は300 °Cであり、UV検出は280 nmであり、FLDは励起280 nmおよび発光330 nmであり、総実行時間は15分間であった。

【0389】

サイズ純度の結果を表16に示す。すべての物質が、低レベルの高位種（HOS）のみを示した。

【0390】

（表16）Fc結合アッセイに使用された構築体のサイズ純度

構築体	抗原	SECによるサイズ純度 (標的種%)	SECによるサイズ純度 (HOS %)
mAb	CD20	97.0%	1.7%
構築体 13 (S3Y)	CD20	89.6%	0.0%
構築体 7 (S3I)	CD20	89.0%	1.7%
構築体 8 (S3W)	CD20	83.4%	0.0%
構築体 9 (S3A)	CD20	92.4%	1.5%
構築体 10 (S5I)	CD20	98.4%	1.6%
(構築体 19 (S5X))	CD20	90.0%	0.4%
構築体 16 (S5Y)	CD20	73.8%	1.6%
mAb	CD20	97.0%	1.7%

【0391】

結合分析

結合実験を、CM3シリーズSセンサーチップを使用してBiacore T200計器（GE Healthcare）で行った。FcγR結合の結合価分析のために、天然プロテインAを直接アミン結合により固定化した。リガンドを泳動緩衝液中で希釈し、捕捉した。ヒト組換えCD32aまたはCD64（R&D Systems）の6点希釈系列を捕捉したリガンド上に流した。各リガンドの結合価を以下のように計算した。

リガンドの結合価 = $R_{max} / [(MW_{\text{分析物}} / MW_{\text{リガンド}}) \times \text{リガンド捕捉レベル}]$

【0392】

抗CD20構築体へのCD64結合の分析の結果を表17に示す。いずれの場合でも、CD64結合価はFcドメインの数に等しく、すべてのFcドメインがCD64への結合

に機能したことを示す。S 3 Y-A A-O B I および S 3 Y-A A-A V E と配列が同一であるが、F a b ドメインを欠く対照化合物はそれらの構築体と同等に C D 6 4 に結合し、F a b ドメインの包含が F c 受容体への結合を変化させなかったことを示す。

【 0 3 9 3 】

(表 1 7) 特定の抗 C D 2 0 構築体の原子価

構築体	抗原	Fcドメインの数	SPRによる CD64結合価
mAb	CD20	1	1.5
構築体 13 (S3Y)	CD20	3	3.4
構築体 7 (S3I)	CD20	3	3.0
構築体 8 (S3W)	CD20	3	2.9
構築体 9 (S3A)	CD20	3	3.1
構築体 10 (S5I)	CD20	5	5.5
(構築体 19 (S5X))	CD20	5	4.9
構築体 16 (S5Y)	CD20	5	5.5
対照 (S3Y)	抗原結合ドメイン なし	3	3.

10

20

【 0 3 9 4 】

実施例 4 0 : 構築体が A v i d l y 細胞表面 F c ガンマ受容体により貪欲に結合する

構築体の細胞表面 C D 3 2 a への相対的結合を、抗 C D 2 0 構築体を使用して、時間分解蛍光共鳴エネルギー移動 (T R-F R E T) アッセイ (C i s B i o) で評価した。アッセイ試薬を製造業者の指示に従って調製した。F r e e d o m E V O w a r e 1 5 0 自動液体ハンドラー (T e c a n) を使用して試料毎に 1 0 点 3 倍連続希釈系列を生成し、これを、標識受容体を有する細胞に添加した。その後、標識競合抗体を添加し、プレート室温でインキュベートした。P H E R A s t a r 蛍光リーダー (B M G L a b t e c h G m b h) を使用して、アッセイプレートを 6 6 5 n m および 6 2 0 n m で読み取った。対数変換試料濃度を対応する H T R F シグナル比 (6 6 5 n m / 6 2 0 n m) に対してプロットした。4 パラメータ非線形回帰分析 (最小二乗適合) を X Y-プロットに行って非標識試料の E C 5 0 を計算し、E C 5 0 は F c ガンマ受容体に対する試料の親和性に反比例した。

30

【 0 3 9 5 】

T R-F R E T により決定された C D 3 2 a への競合結合の測定値を、表 1 7 に要約する。I C 5 0 値の減少によって反映されるように、F c ドメインの数の増加により、C D 3 2 a について免疫グロブリンと競合する構築体の能力が大いに高まった。S 3 Y-A A-O B I および S 3 Y-A A-A V E と配列が同一であるが、F a b ドメインを欠く対照化合物はそれらの構築体と同等に細胞表面 C D 3 2 a について競合し、F a b ドメインの包含が F c 受容体への結合を変化させなかったことを示す。

40

【 0 3 9 6 】

(表 1 7) 特定の抗 C D 2 0 構築体の F c 受容体結合

構築体	抗原	FcγRIIIaV158 IC50 (nM)	FcγRIIaH131 IC50 (nM)	FcγRIIb IC50 (nM)
mAb	CD20	428	1273	3291
構築体 13 (S3Y)	CD20	0.076	0.009	2.146
構築体 7 (S3I)	CD20	0.230	0.014	29.220
構築体 8 (S3W)	CD20	0.476	0.026	34.925
構築体 9 (S3A)	CD20	0.539	0.018	17.361
構築体 10 (S5I)	CD20	0.045	0.002	4.427
構築体 15 (S5X)	CD20	0.055	0.012	0.086
構築体 1 (S5Y)	CD20	0.017	0.014	1.231
対照 (S3Y)	抗原結合 ドメインなし	0.097	0.025	3.297

10

【 0 3 9 7 】

20

実施例 4 1：抗原結合は、抗 C D 3 8 構築体において保存される

抗原結合を、S P R を使用して評価した。組み換え型、ヒスチジンタグ付きの C D 3 8 (9 0 4 9 - B 7 R & D S y s t e m s) タンパク質を、以前に固定化した抗 6 X H i s 抗体を使用してセンサ上で捕捉した。同族抗体および S I F ボディの希釈系列をセンサに通過させ、これを分析物注入の合間に低 p H グリシン溶液で再生させた。結合を、1 : 1 ラングミュア相互作用モデルを使用して計算した。

【 0 3 9 8 】

抗 C D 3 8 構築体の結合を表 1 8 に示す。試験された化合物のすべてが、S E C による純度が 9 3 % 以上であった。構築体は、1 : 1 結合を支持したアッセイにおいて対応するモノクローナル抗体の抗原結合と同等の抗原結合を有した。

30

【 0 3 9 9 】

(表 1 8) S P R による抗 C D 3 8 構築体への C D 3 8 結合

構築体	KD (nM)
mAb	670
S3Y	703
S3A	757

【 0 4 0 0 】

表 1 9 は、別個の研究における抗 C D 3 8 構築体の結合についてのデータを提供する。

【 0 4 0 1 】

(表 1 9) 特定の抗 C D 3 8 構築体によるヒト C D 3 8 結合

40

構築体	25℃でのKD (nM)	37℃でのKD (nM)
抗CD38 mAb	129	410
S3Y-AA-CD38	142	661
S3I-AA-CD38	132	442
S5X-AA-CD38	166	553
S3A-AA-CD38	126	410

【 0 4 0 2 】

実施例 4 2：抗 C D 3 8 F c 構築体は、ヒトリリンパ腫細胞に対して増加した細胞溶解活性を示す

50

図 3 1 A および図 3 1 B に示されるように、S 3 Y-A A-C D 3 8 抗 C D 3 8 F c 構築体は、A D C C（初代ヒト N K 細胞介在性）、A D C P（初代ヒトマクロファージ介在性）、および C D C において、同じ F a b を有する抗 C D 3 8 m A b より強力であった。

【0403】

実施例 4 3：抗 C D 3 8 F c 構築体は、抗 C D 3 8 抗体より良好な効力および効能で、全血からの腫瘍細胞枯渇を強化する

このアッセイ（その結果を図 3 2 に示す）において、ヒト全血を、C F S E で標識付けされた D a u d i 細胞でスパイクし、次いで、S 3 Y-A A-C D 3 8 または同じ F a b を有する抗 C D 3 8 m A b で処置した。ベースラインからの全血における腫瘍細胞群（C F S E + C D 1 9 +）の変化を、フローサイトメトリーによって測定した。抗 C D 3 8 F c 構築体は、抗抗 C D 3 8 m A b より 4 0 ~ 1 0 0 倍高い効力を示した（n = 5 人のドナー）。

10

【0404】

実施例 4 4：抗 C D 3 8 F c 構築体は、C D 3 8 補体阻害タンパク質高発現性および低発現性の両方の腫瘍細胞株において、細胞傷害を介在する

C D 3 8 標的化抗体抗 C D 3 8 m A b に対する応答は、腫瘍細胞における C D 3 8 発現レベルと相関している。加えて、補体阻害タンパク質（C D 5 5、C D 5 9）の発現の増加は、抗 C D 3 8 m A b 誘発型腫瘍細胞枯渇を有意に低減させ、結果として疾患進行をもたらす（N i j h o f e t a l.（2016）B l o o d 128：959）。図 3 3 に示されるように、S 3 Y-A A-C D 3 8 抗 C D 3 8 F c 構築体（逆三角形）は、D a u d i 細胞（比較的高い C D 3 8 発現、ならびに比較的低い C D 5 5 および C D 5 9 発現）と、重要なことに、R a j i 細胞（比較的低い C D 3 8 発現、ならびに比較的高い C D 5 5 および C D 5 9 発現）の両方において、同じ F a b（円形）を有する抗 C D 3 8 m A b より C D C 活性が強力であった。

20

【0405】

実施例 4 5：抗 C D 3 8 F c 構築体は、C D 3 8 補体阻害タンパク質高発現性および低発現性の両方の腫瘍細胞株において、細胞傷害を介在する

図 3 4 A および 3 4 B に示されるように、S 3 Y-A A-C y n o、上記の表 6 に記載される抗 c y n o C D 3 8 F c 構築体は、ヒトおよびカニクイザル C D 3 8 の両方に結合し、同じ F a b を有する m A b（抗 c y n o C D 3 8 m A b）と比較して、ヒトリンパ腫細胞に対して改善された A D C C、A D C P、および C D C 活性を示した。

30

【0406】

実施例 4 6：抗 C y n o C D 3 8 F c 構築体は、抗 C y n o C D 3 8 抗体より良好な効力および効能で、カニクイザル全血からの腫瘍細胞枯渇を強化する

このアッセイ（その結果を図 3 5 に示す）において、カニクイザル全血を、C F S E で標識付けされた D a u d i 細胞でスパイクし、次いで、S 3 Y-A A-C y n o C D 3 8 または同じ F a b を有する抗 C D 3 8 m A b で処置した。ベースラインからの全血における腫瘍細胞群（C F S E + C D 1 9 +）の変化を、フローサイトメトリーによって測定した。抗 C y n o C D 3 8 F c 構築体は、抗 c y n o C D 3 8 m A b より有意に高い効力を示した（n = 3）。

40

【0407】

実施例 4 7：抗 C y n o C D 3 8 F c 構築体は、カニクイザルにおいて抗 C y n o C D 3 8 m A b より優れた C D 3 8 高 B 細胞枯渇を示す

このアッセイ（その結果を図 3 6 に示す）において、S 3 A-A A-C y n o は、インビトロで、カニクイザルから収集された末梢血からの B 細胞枯渇により測定された場合（左パネル）と、インビボで、4 時間後の B 細胞枯渇を検査したカニクイザルにおける単回用量 P D 研究において測定された場合（右パネル）の両方において、抗 C y n o C D 3 8 m A b より優れていた。

【0408】

50

実施例 48：抗 CD 38 Fc 構築体は、骨髓形質細胞の負荷が高い多発性骨髓腫患者由来の形質細胞の優れた枯渇を示す

このアッセイ（その結果を図 37 に示す）において、S 3 Y-A A-C D 38 は、同じ F a b 配列を有する抗 CD 38 m A b より優れていた。多発性骨髓腫患者 MM 5 3 6（BM 形質細胞の負荷が 82% である再発患者）由来の凍結骨髓単核細胞（BM-MNC）

を、供給業者から得た。BM-MNC を、異なる濃度の抗 CD 38 m A b または S 3 Y-A A-C D 38 のいずれかの存在下または不在下で、RPMI 1640+20% のヒト血清補体中で溶解し、18 時間インキュベートした（それにより、CDC 介在性細胞致死を可能にした）。翌日、試料を染色し、FACS により分析して、未処置の細胞の表現型により決定された 2 つのマーカーの共発現に基づいて CD 38 発現形質細胞／骨髓腫細胞の代替マーカーとして使用された CD 138+細胞の枯渇を評価した。総単細胞からの生存可能な CD 138+細胞の頻度を、未処置の対照において観察されたベースライン頻度（0% の変化に設定）に正規化されたすべての相対細胞頻度とともに使用して、細胞枯渇を決定した。

【0409】

患者 MM 5 3 6 の総 BM-MNC からの CD 138+細胞の枯渇は、100 または 1000 nM の S 3 Y-A A-C D 38 または抗 CD 38 m A b 処置のいずれかの後に観察され、10 nM の濃度でのいずれの処置でも枯渇は観察されなかった。100 または 1000 nM の濃度の S 3 Y-A A-C D 38 で、生存可能な CD 138+細胞の 90% 超の枯渇飽和を観察した。抗 CD 38 m A b 介在性枯渇は、S 3 Y-A A-C D 38 で観察されたものよりかなり低く、飽和時または飽和付近と考えられる 100 および 1000 nM の濃度での最大枯渇レベルが 24% であった。患者 MM 5 3 6 における高い BM 形質細胞頻度（約 82%）を考慮すると、これらの結果は、臨床応用において抗 CD 38 m A b 処置に対する低い奏効率を有することを示している、骨髓形質細胞の負荷が高い MM 患者における、抗 CD 38 Fc 構築体を使用したより大きな応答の可能性を示し得る。

【0410】

実施例 48：抗 CD 38 Fc 構築体は、細胞表面 FcγR およびヒト血清補体への強化された結合を示す

図 38 A は、FcγRIIa、FcγRIIIa、および補体への S 3 Y-A A-C D 38 の結合が、抗 CD 38 m A b より少なくとも 100 倍大きいことを示す、研究結果を示す。

【0411】

図 38 B は、免疫細胞表面上の FcγRIIa、FcγRIIIa への S 3 Y-A A-C D 38 の 500 倍超強化された結合、および抗 CD 38 m A b より 12 倍強化された C1q 補体タンパク質の結合を示す、研究結果を示す。

【0412】

この明細書中に記載したすべての公開公報、特許および特許出願は、あたかも独立の公開公報または特許出願それぞれが特別にかつ個別に示されて参照によって組み入れられるかのように、同じ程度まで参照することによってここに組み入れるものとする。

【0413】

この開示について、その特定の実施形態に関連して説明したが、さらなる変形が可能であることと、この出願は、概してこの開示の原則に従い、かつ、この開示が関係する技術分野の範囲内で既知または通例である範囲にあり、先に述べた本質的な特徴に応用することができるような、この開示からの逸脱を含んだ、この開示の任意のバリエーション、使用または適応を網羅することを意図し、請求項の範囲に従うものであることが理解されるであろう。

【0414】

他の実施形態は、特許請求の範囲の範囲内とする。

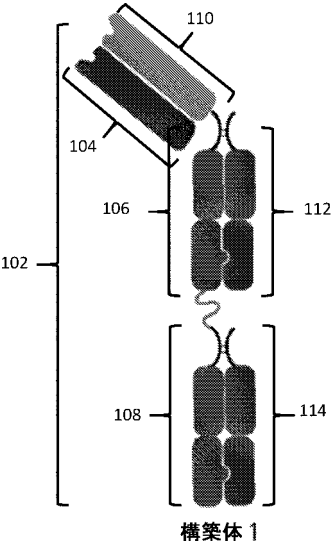
10

20

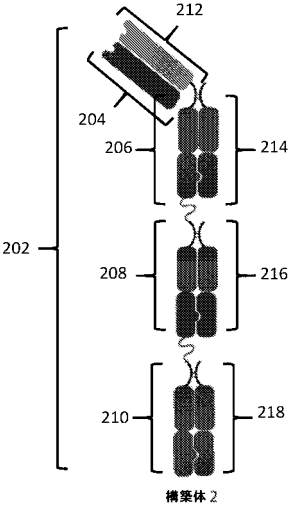
30

40

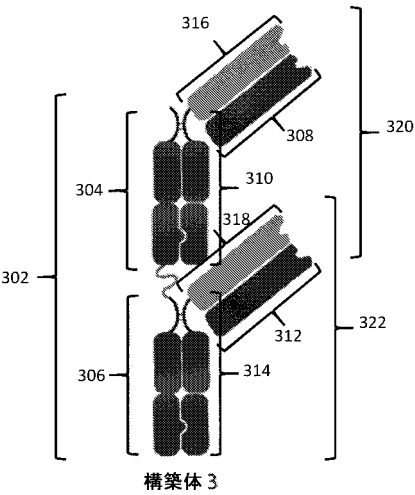
【図 1】



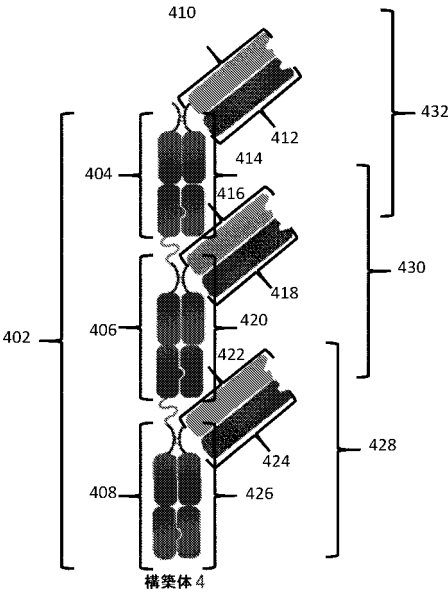
【図 2】



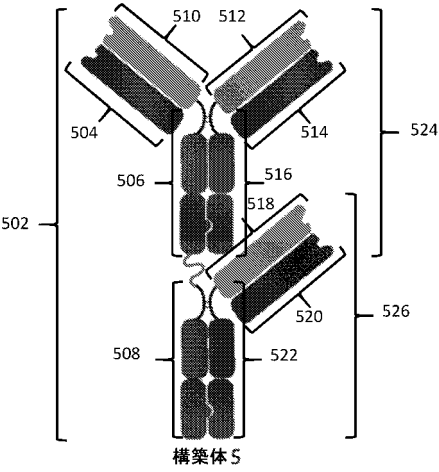
【図 3】



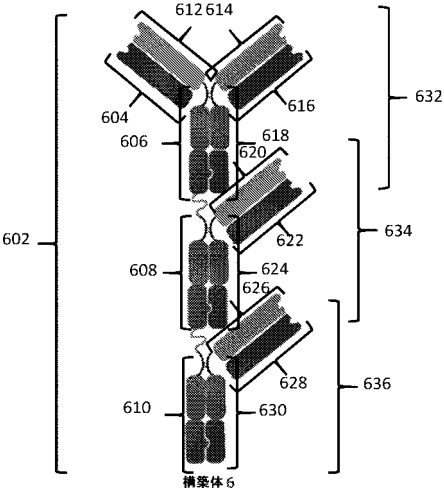
【図 4】



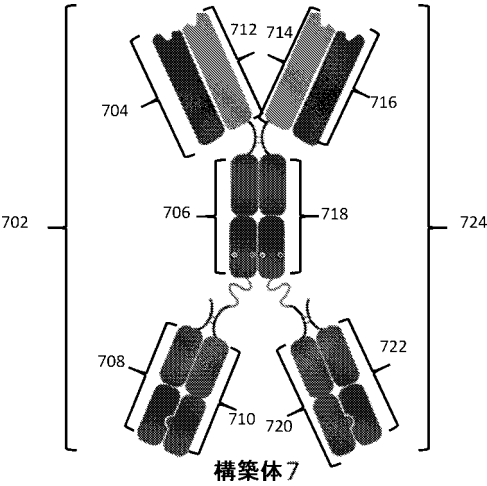
【図 5】



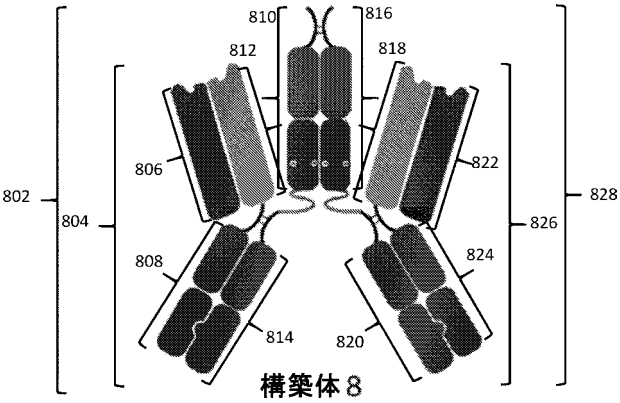
【図 6】



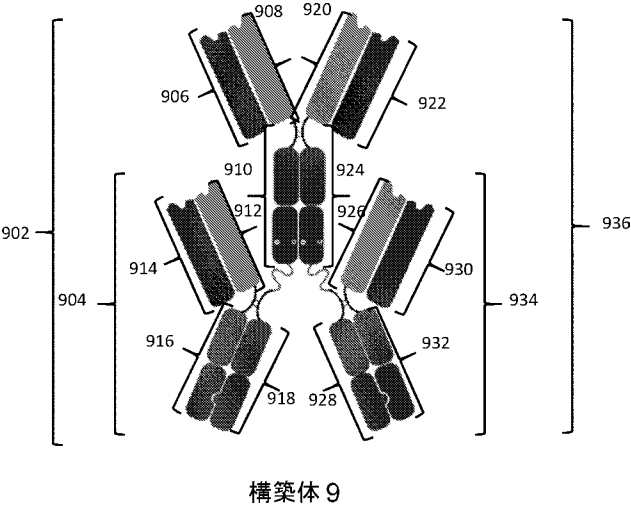
【図 7】



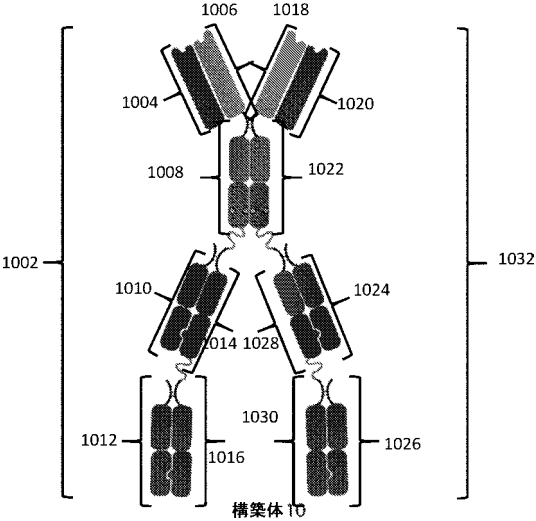
【図 8】



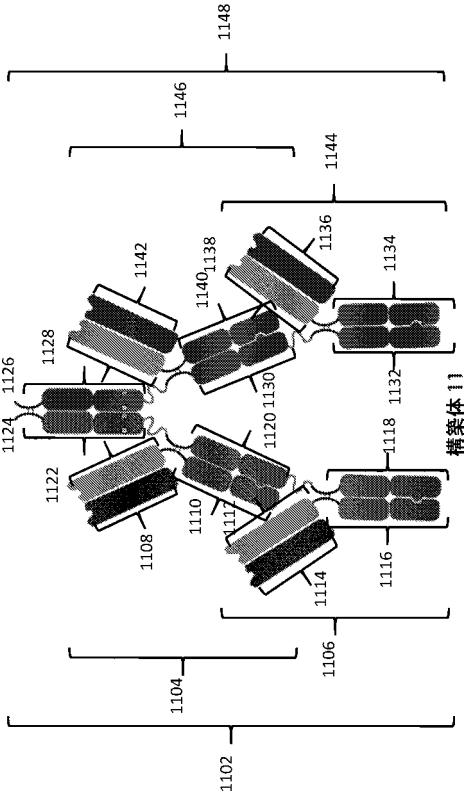
【図 9】



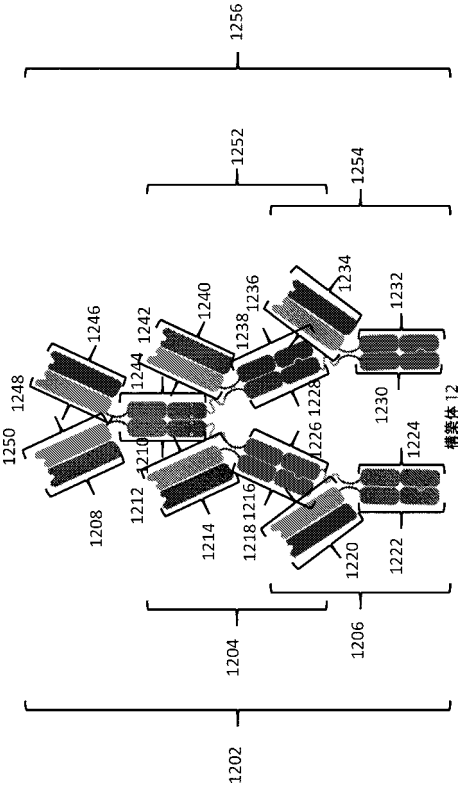
【図 10】



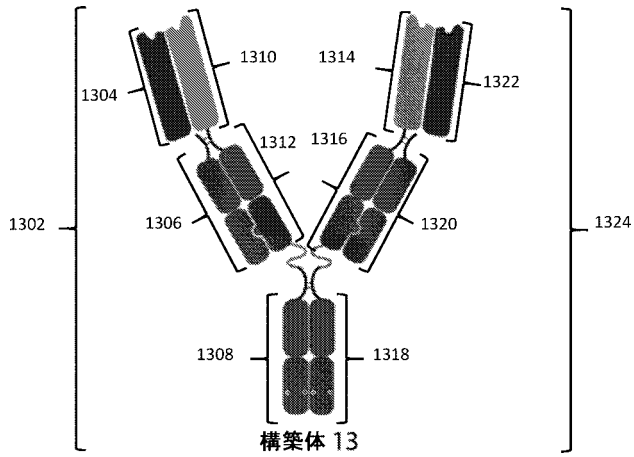
【図 11】



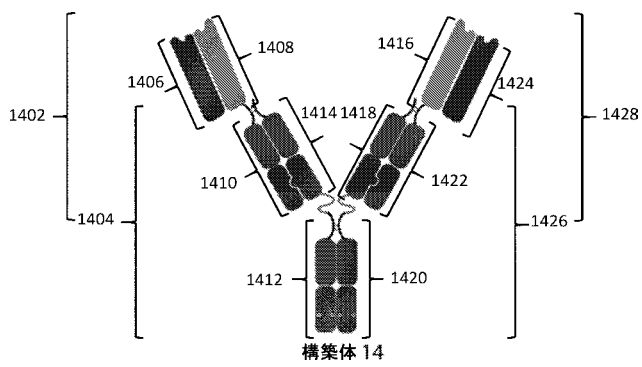
【図 12】



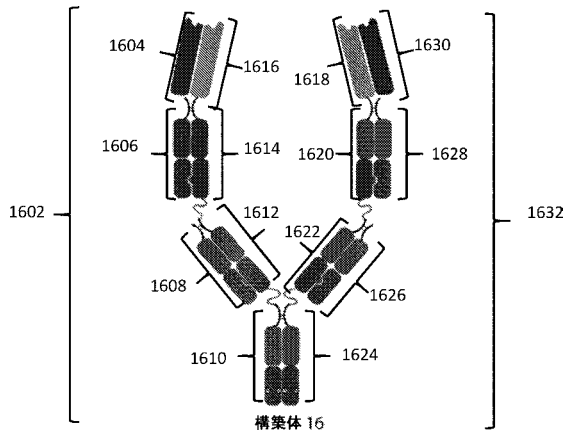
【図 13】



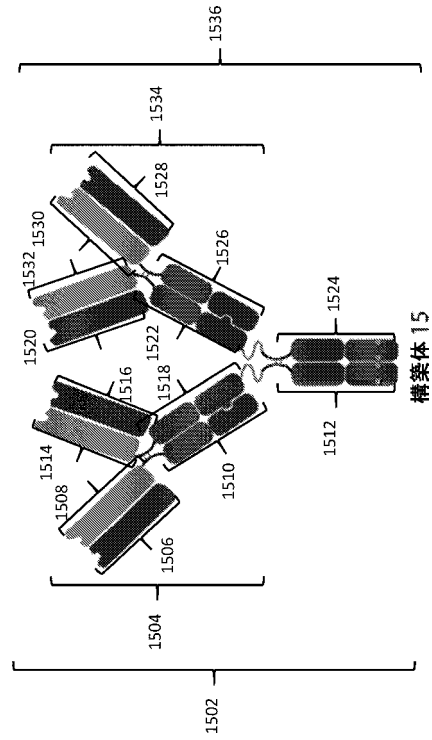
【図 14】



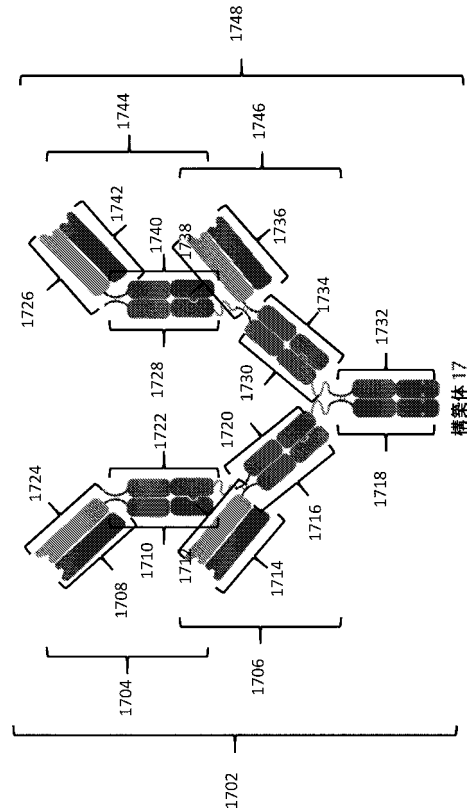
【図 16】



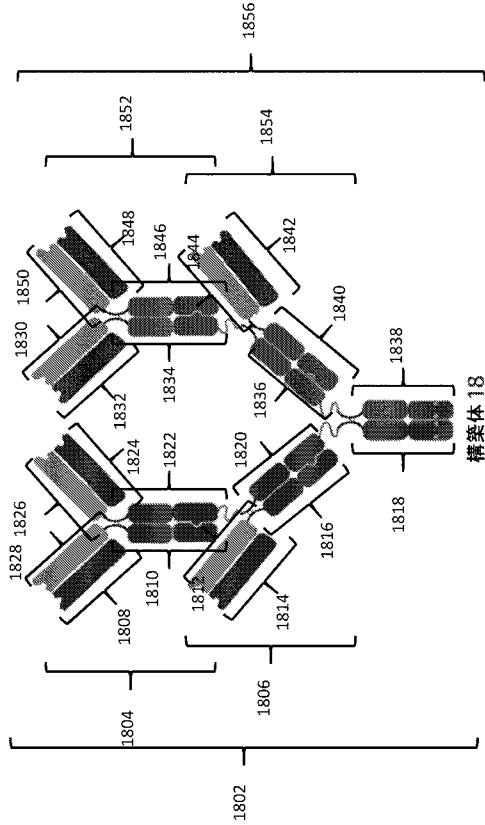
【図 15】



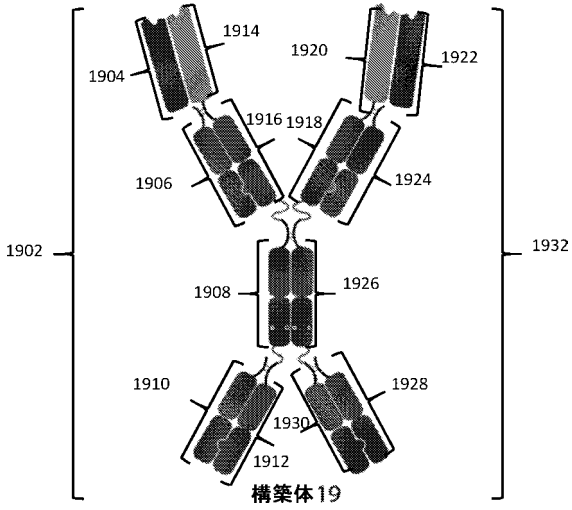
【図 17】



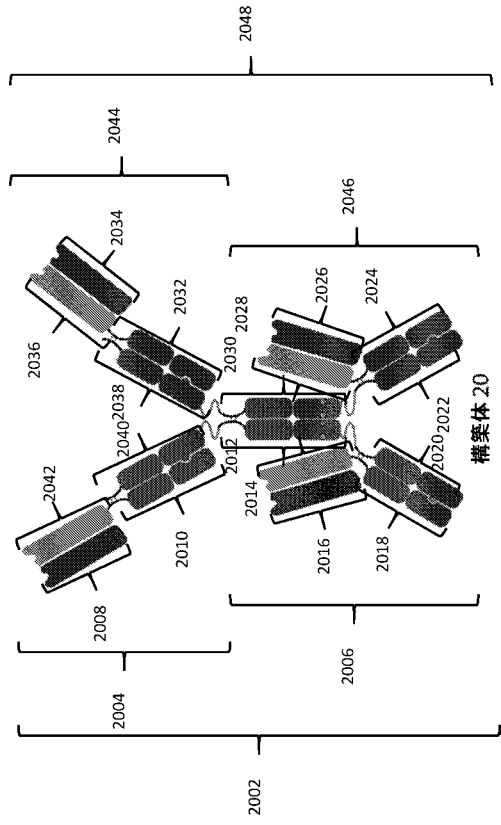
【図 18】



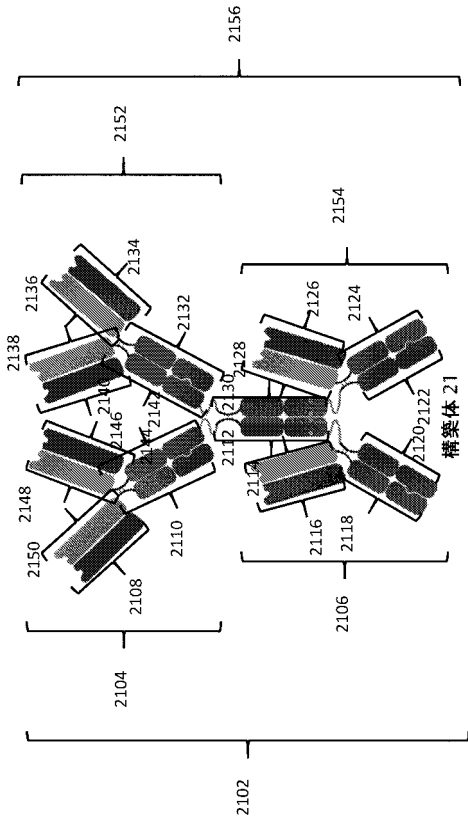
【図 19】



【図 20】



【図 21】



A 【図 2 4】

(配列番号 43)

216 EPKSCDXTHTGRCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTRYRVSVLTVHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPR 344
 345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGEYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFELYSK 409
 410 LTVDKSRWQOGNVEFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447

B 【図 2 4】

(配列番号 45)

221 DKTHITCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTRYRVSVLTVHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPR 344
 345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGEYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFELYSK 409
 410 LTVDKSRWQOGNVEFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 446

C 【図 2 4】

(配列番号 47)

216 EPKSCDXTHTGRCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTRYRVSVLTVHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPR 344
 345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGEYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFELYSK 409
 410 LTVDKSRWQOGNVEFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 445

D 【図 2 4】

(配列番号 42)

221 DKTHITCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTRYRVSVLTVHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPR 344
 345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGEYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFELYSK 409
 410 LTVDKSRWQOGNVEFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447

予備データ

【図 2 2】

抗体依存性
細胞傷害性

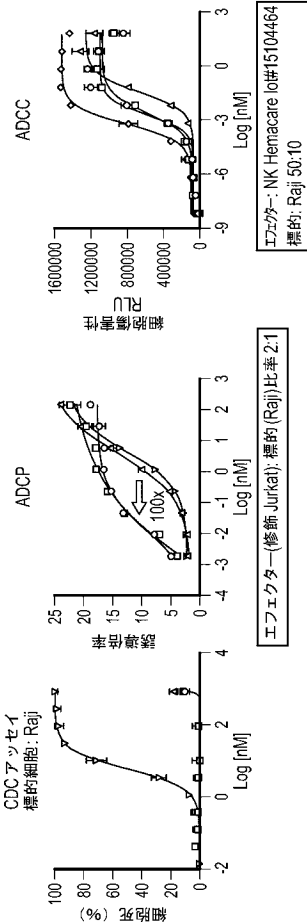
抗CD20 SAI
 抗CD20 S3Y
 抗CD20 mAb (フコシル化)
 抗CD20 mAb (脱フコシル化)

抗体依存性細胞貪食
FcγRIIIaレポーター
アッセイ

抗CD20 SAI
 抗CD20 S3Y
 抗CD20 mAb (フコシル化)
 抗CD20 mAb (脱フコシル化)

抗体依存性
細胞障害

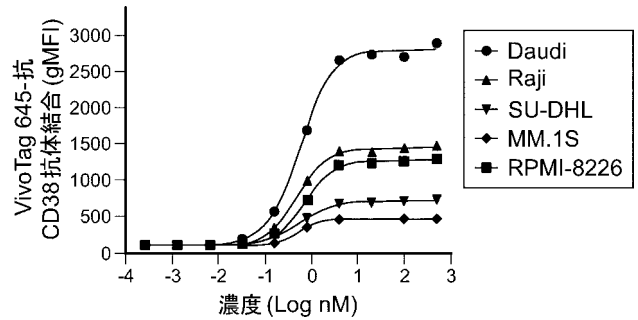
抗CD20 mAb (脱フコシル化)
 抗CD20 mAb (フコシル化)
 抗CD20 S3Y
 抗CD20 SAI



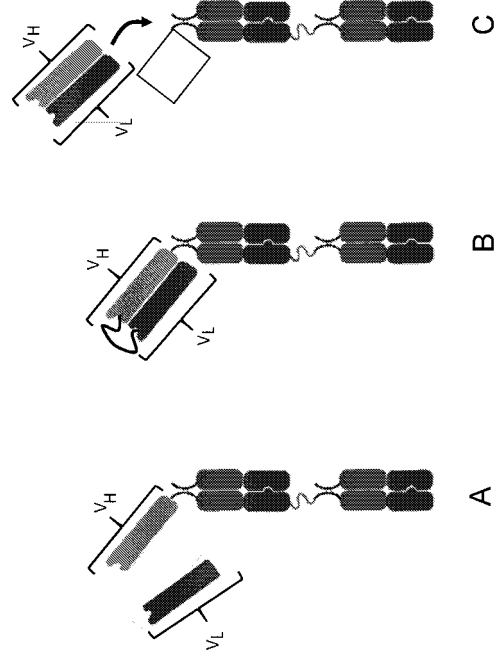
【図 2 5】

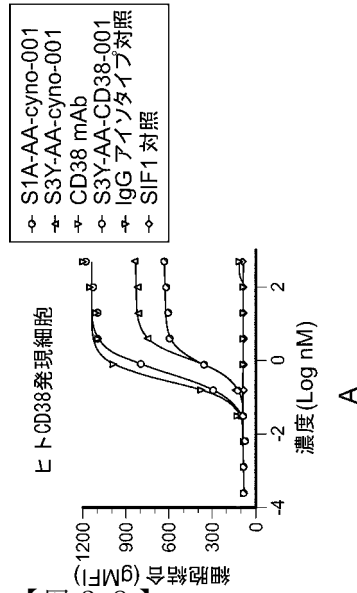
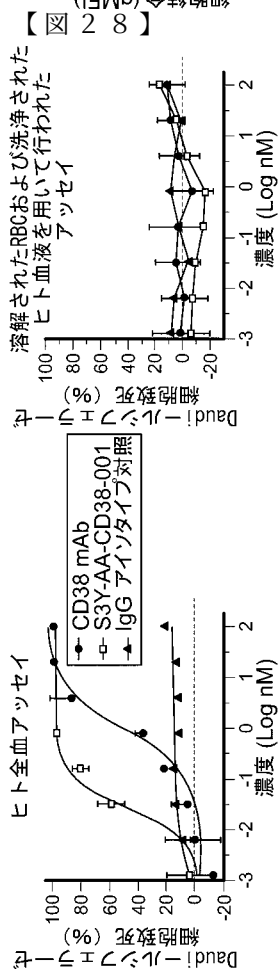
(配列番号 42)

221 DKTHITCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTRYRVSVLTVHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPR 344
 345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGEYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFELYSK 409
 410 LTVDKSRWQOGNVEFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447

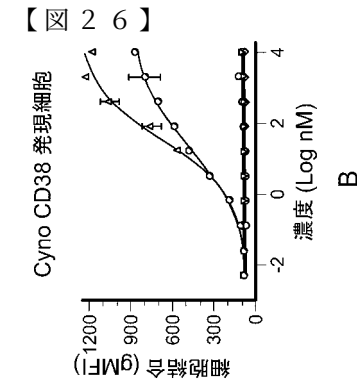
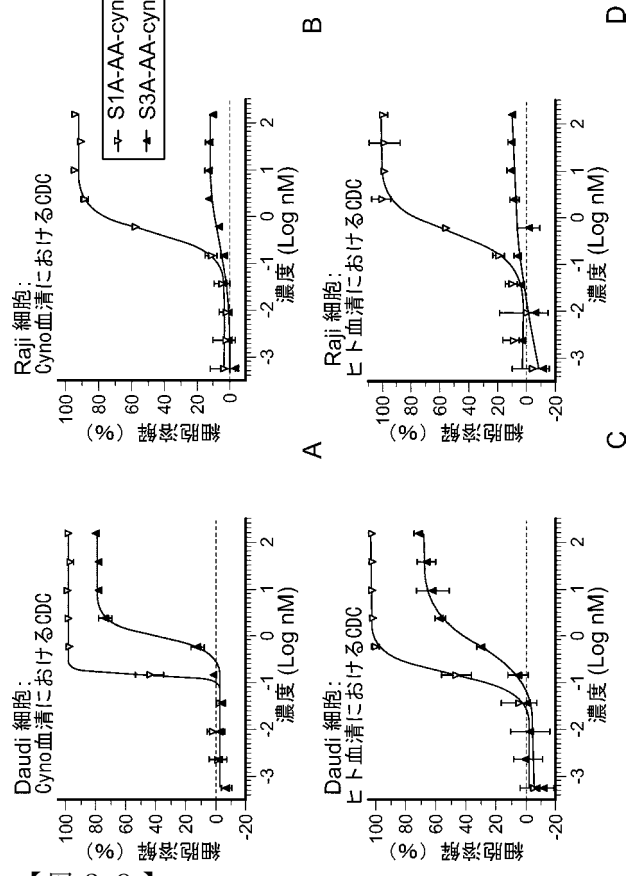
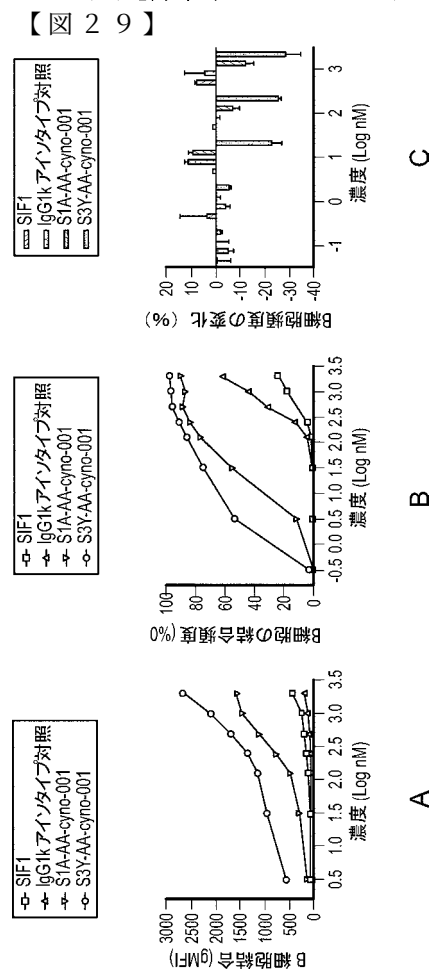


【図 2 3】

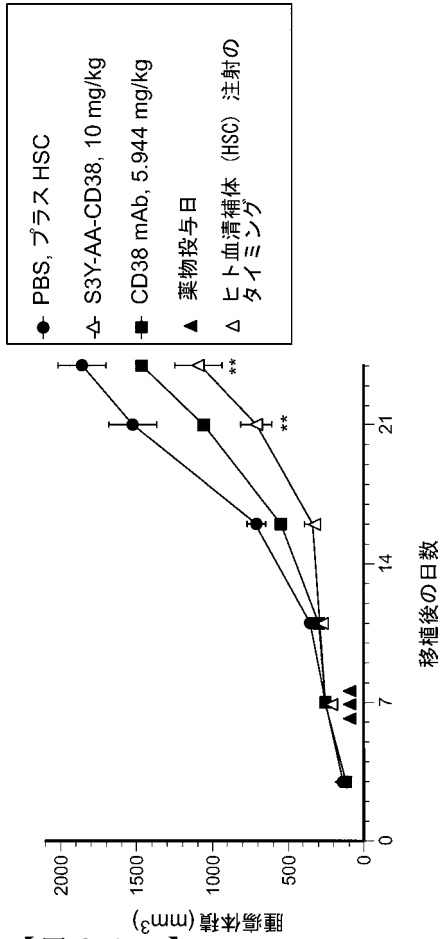




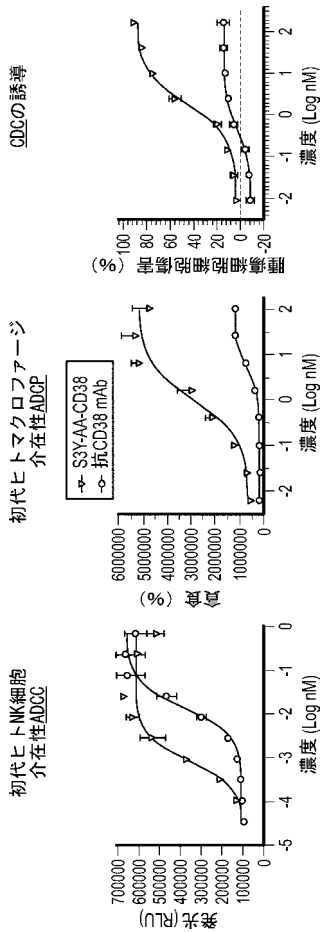
ヒト血液ドナー	CD38 mAb (EC50 nM)	S3Y-AA-CD38-001 (EC50 nM)
H02	0.579	0.05513
K50	6.192	0.4602
M116	0.9974	0.02707



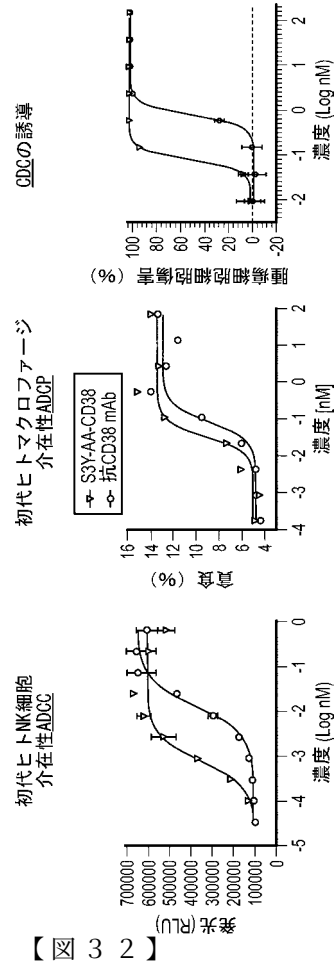
【図 30】



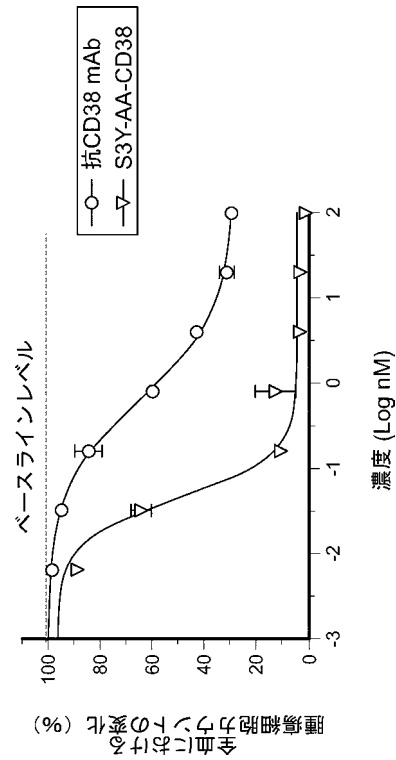
【図 31 B】



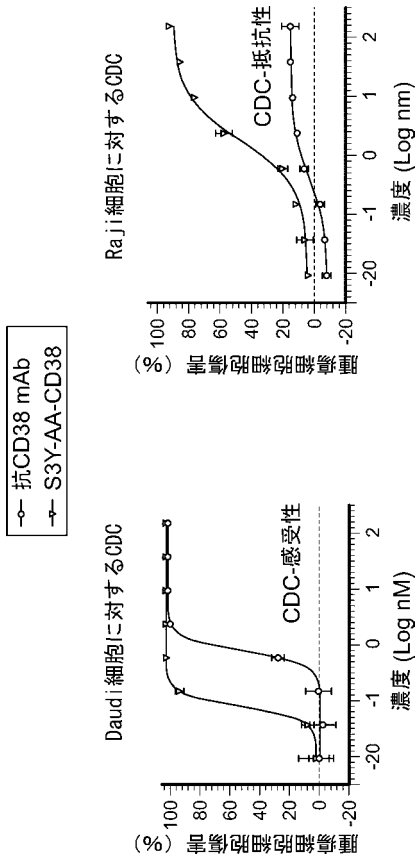
【図 31 A】



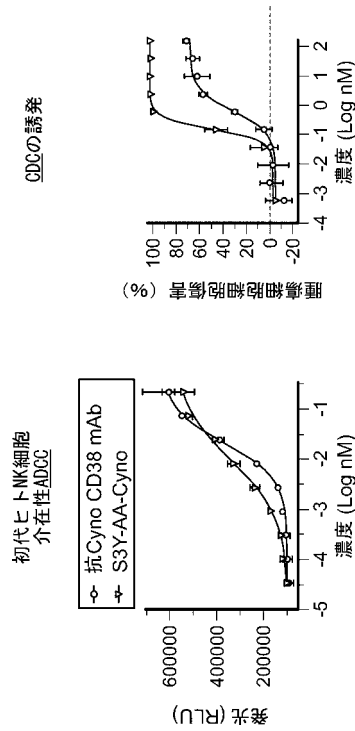
【図 32】



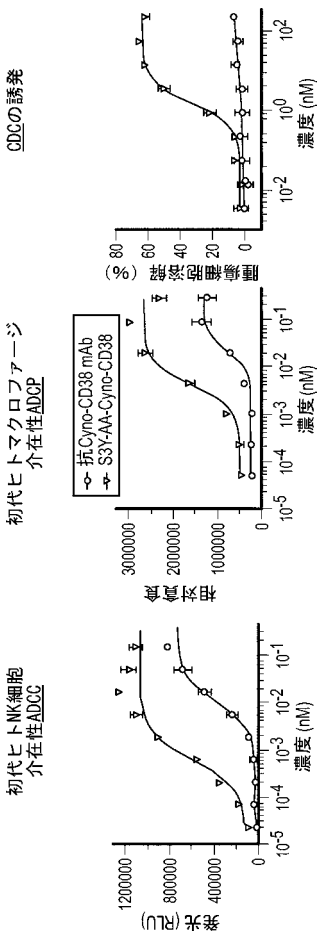
【図 3 3】



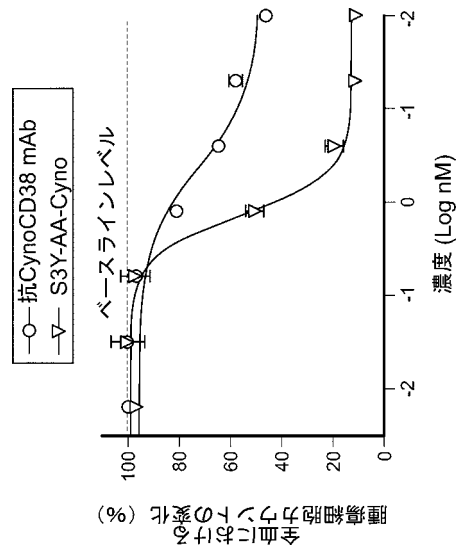
【図 3 4 A】



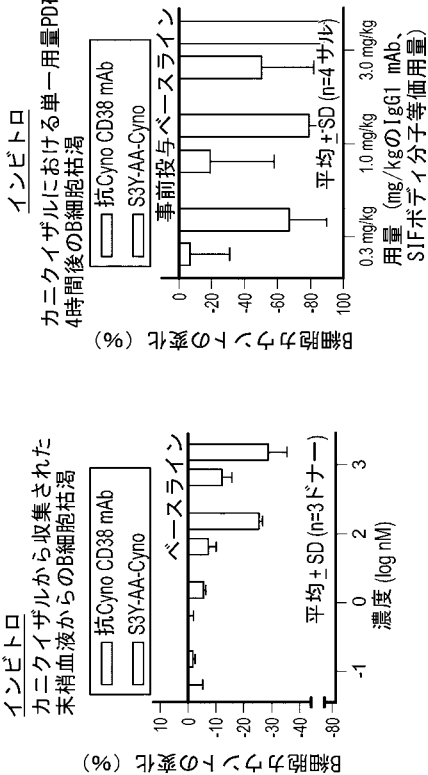
【図 3 4 B】



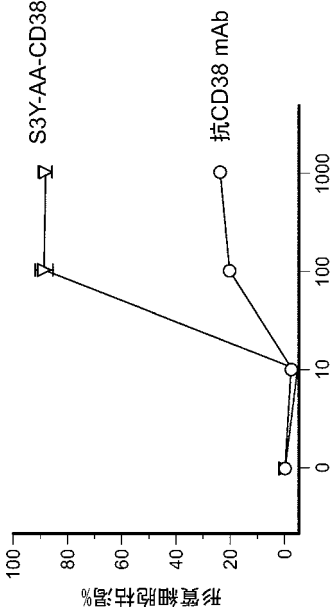
【図 3 5】



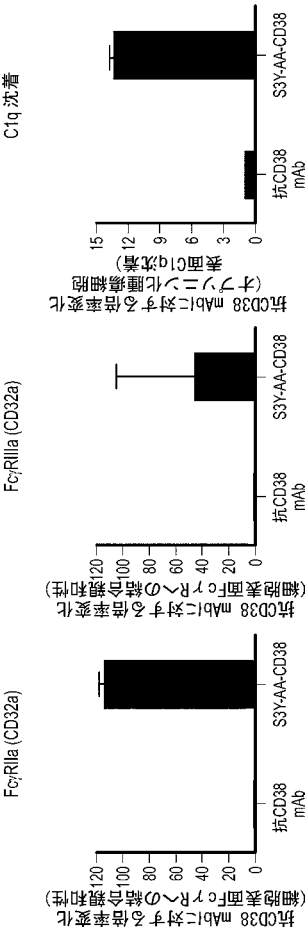
【図 3 6】



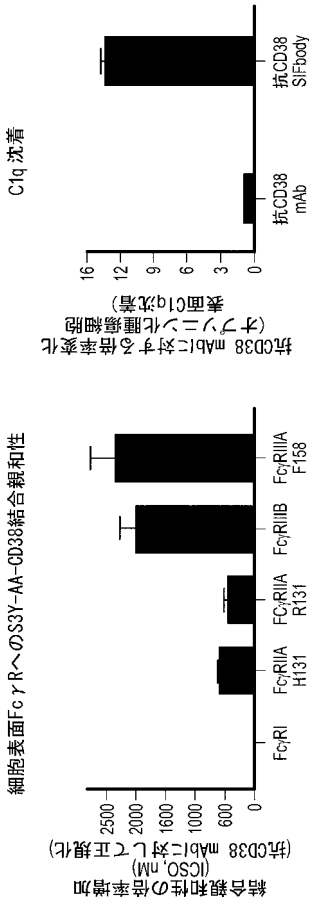
【図 3 7】



【図 3 8 A - 1】



【図 3 8 A - 2】



【手続補正書】

【提出日】令和3年4月20日(2021.4.20)

【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】

C D 3 8 結合ドメインと、リンカーによって第2のF cドメインに結合された第1のF cドメインとを含む、F c抗原結合ドメイン構築体であって、

前記第1および第2のF cドメインの各々が、ヘテロ二量体化選択性モジュールまたはホモ二量体化選択性モジュールのいずれかを含む、F c抗原結合ドメイン構築体。

【請求項2】

C D 3 8 結合ドメインと、リンカーと、ヒンジドメイン、C H 2ドメイン、およびC H 3ドメインを含む第1のI g G 1 F cドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2ドメイン、およびC H 3ドメインを含む第2のI g G 1 F cドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2ドメイン、およびC H 3ドメインを含む任意選択の第3のI g G 1 F cドメイン単量体とを含む、ポリペプチドであって、

少なくとも2つのF cドメイン単量体が、ヘテロ二量体化選択性モジュールまたはホモ二量体化選択性モジュールのいずれかを含む、ポリペプチド。

【請求項3】

前記C D 3 8 結合ドメインが、抗体重鎖可変ドメインを含む、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項4】

前記C D 3 8 結合ドメインが、抗体軽鎖可変ドメインを含む、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項5】

前記第1のI g G 1 F cドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含み、前記第2のI g G 1 F cドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項6】

前記第1のI g G 1 F cドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含み、前記第2のI g G 1 F cドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項7】

前記第1のI g G 1 F cドメイン単量体および前記第2のI g G 定常ドメイン単量体の両方が、改変された突起を形成する変異を含む、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項8】

第3のリンカーと、第3のI g G 1 F cドメイン単量体と、を含み、

前記第1のI g G 1 F cドメイン単量体、前記第2のI g G 1 F cドメイン単量体、および前記第3のI g G 1 F cドメイン単量体が各々、改変された突起を形成する変異を含む、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項9】

第3のリンカーと、第3のI g G 1 F cドメイン単量体と、を含み、

前記第1のI g G 1 F cドメイン単量体および前記第2のI g G 1 F cドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第3のI g G 1 F cドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、

請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第 2 の I g G 1 ドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含む、
請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 11】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第 1 の I g G 1 ドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含む、
請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 12】

改変された突起を形成する変異を含む前記 I g G 1 F c ドメイン単量体が、1、2、または 3 つの逆電荷変異をさらに含む、請求項 2 ～ 11 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 13】

前記改変された突起を形成する変異および前記逆電荷変異が、C H 3 ドメイン内にある、請求項 2 ～ 12 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 14】

前記変異が、E U の G 3 4 1 位～E U の K 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 13 に記載のポリペプチド。

【請求項 15】

前記変異が、単一アミノ酸変化である、請求項 2 ～ 13 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 16】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、
GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1), GGS (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GSGSGS (配列番号 9), GSGSGSGS (配列番号 10),
GSGSGSGSGSGS (配列番号 11), GGS (配列番号 2), GGS (配列番号 2), GSGGGSG (配列番号 12), GSGGGSGGGSGGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31),
GGSAGSGSGSGSSGSGSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GSGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS (配列番号 34), GGGSGGGSGGGGS (配列番号 35), SGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG (配列番号 18), GSGSGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), および
GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 17】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、グリシンスペーサーである、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 18】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが独立して、4 ～ 30 (配列

番号 214)、4～20(配列番号 217)、8～30(配列番号 215)、8～20(配列番号 218)、12～20(配列番号 219)、または12～30個(配列番号 216)のグリシン残基からなる、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項19】

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、20個のグリシン残基(配列番号 23)からなる、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項20】

前記Fcドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、EUのI253位に単一アミノ酸変異を含む、請求項2～19のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項21】

EUのI253位の各アミノ酸変異が独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択される、請求項20に記載のポリペプチド。

【請求項22】

I253位の各アミノ酸変異が、I253Aである、請求項21に記載のポリペプチド。

【請求項23】

前記Fcドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、EUのR292位に単一アミノ酸変異を含む、請求項2～22のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項24】

EUのR292位の各アミノ酸変異が独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択される、請求項23に記載のポリペプチド。

【請求項25】

R292位の各アミノ酸変異が、R292Pである、請求項24に記載のポリペプチド。

【請求項26】

各Fcドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPEL(配列番号 220)およびDKTHTCPPCPAPEL(配列番号 221)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項2～25のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項27】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPEL(配列番号 221)を有する、請求項26に記載のポリペプチド。

【請求項28】

前記第1のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPEL(配列番号 222)を有する、請求項26に記載のポリペプチド。

【請求項29】

前記第1のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPEL(配列番号 222)を有し、前記第2のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列DKTHTCPPCPAPEL(配列番号 221)を有する、請求項26に記載のポリペプチド。

【請求項30】

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列
GGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(配列番号 223)

を含む、請求項 2 ～ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 31】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 2 ～ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 32】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 2 ～ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 33】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 2 ～ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 34】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 2 ～ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 35】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 2 ～ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 36】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 2 ～ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 37】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 2 ～ 29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 38】

前記単一アミノ酸置換が、T366Y、T366W、T394W、T394Y、F405W、F405A、Y407A、S354C、Y349T、T394F、K409D、K409E、K392D、K392E、K370D、K370E、D399K、D399R、E357K、E357R、D356K、および D356R からなる群から選択される、請求項 30 ～ 37 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 39】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列

番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 2～29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 40】

前記単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、前記 CH3 ドメイン内の逆電荷変異であるか、または改変された突起を形成する変異である、請求項 39 に記載のポリペプチド。

【請求項 41】

前記単一アミノ酸置換が、EU の G341 位～EU の K447 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 39 に記載のポリペプチド。

【請求項 42】

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T366Y、T366W、T394W、T394Y、F405W、S354C、Y349T、および T394F からなる群から選択される、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 43】

前記 2 つまたは 4 つの逆電荷変異が、K409D、K409E、K392D、K392E、K370D、K370E、D399K、D399R、E357K、E357R、D356K、および D356R から選択される、請求項 5、6、および 9～29 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 44】

前記 CD38 結合ドメインが、scFv である、請求項 2～43 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 45】

前記 CD38 結合ドメインが、VH ドメインおよび CH1 ドメインを含む、請求項 2～43 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 46】

前記 CD38 結合ドメインが、VL ドメインをさらに含む、請求項 43 に記載のポリペプチド。

【請求項 47】

前記 VH ドメインが、表 1 に記載の CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 配列のセットを含む、請求項 45 に記載のポリペプチド。

【請求項 48】

前記 VH ドメインが、表 2 に記載の抗体の配列を含む VH ドメインの CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 を含む、請求項 45 に記載のポリペプチド。

【請求項 49】

前記 VH ドメインが、表 2 に記載の抗体の VH 配列の CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 を含み、前記 VH 配列が、前記 CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 配列を除き、表 2 に記載の抗体の VH 配列と少なくとも 95% または 98% 同一である、請求項 45 に記載のポリペプチド。

【請求項 50】

前記 VH ドメインが、表 2 に記載の抗体の VH 配列を含む、請求項 45 に記載のポリペプチド。

【請求項 51】

前記 CD38 結合ドメインが、表 1 に記載される CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、および CDR-L3 の配列のセットを含む、請求項 45 に記載のポリペプチド。

【請求項 52】

前記 CD38 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の VH 配列および VL 配列のセットからの CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、および CDR-L3 の配列を含む、請求項 45 に記載のポリペプチド。

【請求項 53】

前記 CD38 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の VH 配列の CDR-H1、CD

R-H 2、および CDR-H 3を含む V Hドメイン、ならびに表 2 に記載される抗体の V L 配列の CDR-L 1、CDR-L 2、および CDR-L 3を含む V Lドメインを含み、前記 V Hドメイン配列および V Lドメイン配列が、CDR-H 1、CDR-H 2、CDR-H 3、CDR-L 1、CDR-L 2 および CDR-L 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H配列および V L 配列に対して少なくとも 95% または 98% 同一である、請求項 45 に記載のポリペプチド。

【請求項 54】

前記 CD 38 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V H配列および V L 配列のセットを含む、請求項 45 に記載のポリペプチド。

【請求項 55】

前記 CD 38 結合ドメインが、I g G C L 抗体定常ドメインおよび I g G C H 1 抗体定常ドメインを含む、請求項 2 ～ 43 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 56】

前記 CD 38 結合ドメインが、V Hドメインおよび C H 1 ドメインを含み、V Lドメインおよび C Lドメインを含むポリペプチドに結合して F a b を形成することができる、請求項 2 ～ 43 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 57】

前記第 1 または第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体の前記ヒンジ内のシステイン残基間のジスルフィド結合によって結合される請求項 2 ～ 56 のいずれか一項に記載のポリペプチドの 2 つのコピーを含む、ポリペプチド複合体。

【請求項 58】

ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む I g G 1 F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドに結合される、請求項 2 ～ 56 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、ポリペプチド複合体であって、

前記ポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドが、前記ポリペプチドの前記第 1、第 2、または第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の前記ヒンジドメイン内および前記第 2 のポリペプチドの前記ヒンジドメイン内のシステイン残基間のジスルフィド結合により結合される、
ポリペプチド複合体。

【請求項 59】

前記第 2 のポリペプチド単量体が、改変された空洞を形成する変異を含む、請求項 58 に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 60】

前記改変された空洞を形成する前記変異が、Y 407 T、Y 407 A、F 405 A、T 394 S、T 394 W / Y 407 A、T 366 W / T 394 S、T 366 S / L 368 A / Y 407 V / Y 349 C、S 364 H / F 405 A からなる群から選択される、請求項 59 に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 61】

前記第 2 のポリペプチドが、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 58 ～ 60 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 62】

CD 38 結合ドメインと、リンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、第 2 のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、任意選択の第 3 のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む任意選択の第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体とを含む、ポリペプチドであって、

少なくとも 1 つの F c ドメイン単量体が、1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、ポリペプチド。

【請求項 6 3】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、抗体重鎖可変ドメインを含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 4】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、抗体軽鎖可変ドメインを含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 5】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含み、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 6】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A および表 4 B A および表 4 B 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 7】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 2 の I g G 定常ドメイン単量体の両方が、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 8】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体、および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が各々、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、
請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6 9】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、
請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 0】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 2 の I g G 1 ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、
請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 1】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A および表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 1 の I g G 1 ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、

請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 2】

表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む前記 I g G 1 F c ドメイン単量体が、同一の C H 3 ドメインを有する、請求項 6 2 ～ 7 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 7 3】

表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異が、C H 3 ドメインにある、請求項 6 2 ～ 7 2 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 7 4】

前記変異が、E U の G 3 4 1 位～E U の K 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 7 3 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 5】

前記変異が各々、単一アミノ酸変化である、請求項 6 2 ～ 7 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 7 6】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1), GSG (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GSGSGS (配列番号 9), GSGSGSGS (配列番号 10), GSGSGSGSGSGS (配列番号 11), GSGG (配列番号 2), GSGG (配列番号 2), GSGGGSGG (配列番号 12), GSGGGSGGGSGGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGSGSGSSGSGSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GSGSGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS (配列番号 34), GGGSGGGSGGGGS (配列番号 35), SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG (配列番号 18), GSGSGGSGGGSGGGSGGG (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), および GGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項 7 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 7】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、グリシンスペーサーである、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 8】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが独立して、4 ～ 3 0 (配列番号 214)、4 ～ 2 0 (配列番号 217)、8 ～ 3 0 (配列番号 215)、8 ～ 2 0 (配列番号 218)、1 2 ～ 2 0 (配列番号 219)、または 1 2 ～ 3 0 個 (配列番号 216) のグリシン残基からなる、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 7 9】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、2 0 個のグリシン残基 (配列番号 23) からなる、請求項 6 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 0】

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも 1 つが、E U の I 2 5 3 位に単一アミノ酸変異を含む、請求項 6 2 ～ 7 9 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 1】

E U の I 2 5 3 位の各アミノ酸変異が独立して、I 2 5 3 A、I 2 5 3 C、I 2 5 3 D、I 2 5 3 E、I 2 5 3 F、I 2 5 3 G、I 2 5 3 H、I 2 5 3 I、I 2 5 3 K、I 2 5

3 L、I 2 5 3 M、I 2 5 3 N、I 2 5 3 P、I 2 5 3 Q、I 2 5 3 R、I 2 5 3 S、I 2 5 3 T、I 2 5 3 V、I 2 5 3 W、および I 2 5 3 Y からなる群から選択される、請求項 8 0 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 2】

I 2 5 3 位の各アミノ酸変異が、I 2 5 3 A である、請求項 8 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 3】

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも 1 つが、E U の R 2 9 2 位に単一アミノ酸変異を含む、請求項 6 2 ～ 8 2 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 8 4】

E U の R 2 9 2 位の各アミノ酸変異が独立して、R 2 9 2 D、R 2 9 2 E、R 2 9 2 L、R 2 9 2 P、R 2 9 2 Q、R 2 9 2 R、R 2 9 2 T、および R 2 9 2 Y からなる群から選択される、請求項 8 3 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 5】

R 2 9 2 位の各アミノ酸変異が、R 2 9 2 P である、請求項 8 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 6】

各 F c ドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 220) および D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 221) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項 6 2 ～ 8 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 8 7】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 221) を有する、請求項 8 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 8】

前記第 1 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L (配列番号 222) を有する、請求項 8 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 8 9】

前記第 1 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L (配列番号 222) を有し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 221) を有する、請求項 8 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 9 0】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが独立して、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 6 2 ～ 8 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 9 1】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 6 2 ～ 8 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 9 2】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 93】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、アミノ酸配列
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 94】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 95】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 96】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 97】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 98】

前記単一アミノ酸置換が、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択される、請求項 90～97 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 99】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 42、43、45、および 47 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 62～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 100】

前記単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、前記 C H 3 ドメイン内の逆電荷変異である、請求項 99 に記載のポリペプチド。

【請求項 101】

前記単一アミノ酸置換が、E U の G 3 4 1 位～E U の K 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 99 に記載のポリペプチド。

【請求項 102】

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、および T 3 9 4 F からなる群から選択される、請求項 62 に記載のポリペプチド。

【請求項 103】

前記 2 つまたは 4 つの逆電荷変異が、K 409 D、K 409 E、K 392 D、K 392 E、K 370 D、K 370 E、D 399 K、D 399 R、E 357 K、E 357 R、D 356 K、および D 356 R から選択される、請求項 65、66、および 69～89 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 104】

前記 C D 38 結合ドメインが、s c F v である、請求項 62～103 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 105】

前記 C D 38 結合ドメインが、V H ドメインおよび C H 1 ドメインを含む、請求項 62～103 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 106】

前記 C D 38 結合ドメインが、V L ドメインをさらに含む、請求項 103 に記載のポリペプチド。

【請求項 107】

前記 V H ドメインが、表 1 に記載の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 配列のセットを含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 108】

前記 V H ドメインが、表 2 に記載の抗体の配列を含む V H ドメインの C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 109】

前記 V H ドメインが、表 2 に記載の抗体の V H 配列の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含む、前記 V H 配列が、前記 C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 配列を除き、表 2 に記載の抗体の V H 配列と少なくとも 95% または 98% 同一である、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 110】

前記 V H ドメインが、表 2 に記載の抗体の V H 配列を含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 111】

前記 C D 38 結合ドメインが、表 1 に記載される C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 の配列のセットを含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 112】

前記 C D 38 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V H 配列および V L 配列のセットからの C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 の配列を含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 113】

前記 C D 38 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含む V H ドメイン、ならびに表 2 に記載される抗体の V L 配列の C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 を含む V L ドメインを含み、前記 V H ドメイン配列および V L ドメイン配列が、C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2 および C D R-L 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列および V L 配列に対して少なくとも 95% または 98% 同一である、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 114】

前記 C D 38 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V H 配列および V L 配列のセットを含む、請求項 105 に記載のポリペプチド。

【請求項 115】

前記 C D 38 結合ドメインが、I g G C L 抗体定常ドメインおよび I g G C H 1 抗体定常ドメインを含む、請求項 62～103 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 1 6】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、V Hドメインおよび C H 1 ドメインを含み、V Lドメインおよび C Lドメインを含むポリペプチドに結合して F a bを形成することができる、請求項 6 2～1 0 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 1 7】

前記第 1 または第 2 の I g G 1 F cドメイン単量体の前記ヒンジ内のシステイン残基間のジスルフィド結合によって結合される請求項 2～5 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドの 2 つのコピーを含む、ポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 8】

ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む I g G 1 F cドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドに結合される請求項 6 2～1 1 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、ポリペプチド複合体であって、

前記ポリペプチドと前記第 2 のポリペプチドが、前記ポリペプチドの前記第 1、第 2、または第 3 の I g G 1 F cドメイン単量体の前記ヒンジドメイン内のシステイン残基と前記第 2 のポリペプチドの前記ヒンジドメイン内のシステイン残基との間のジスルフィド結合によって結合される、ポリペプチド複合体。

【請求項 1 1 9】

前記第 2 のポリペプチド単量体が、1、2、または 3 つの逆電荷変異を含む、請求項 1 1 8 に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 1 2 0】

前記第 2 のポリペプチド単量体が、表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷変異を含み、かつ前記ポリペプチド内の前記表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷変異に対して相補的である、請求項 1 2 9 に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 1 2 1】

前記第 2 のポリペプチドが、最大 1 0 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 1 1 8～1 2 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

【請求項 1 2 2】

ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第 1 の I g G 1 F cドメイン単量体と、第 2 のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む第 2 の I g G 1 F cドメイン単量体と、任意選択の第 3 のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、および C H 3 ドメインを含む任意選択の第 3 の I g G 1 F cドメイン単量体とを含む、ポリペプチドであって、

少なくとも 1 つの F cドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、ポリペプチド。

【請求項 1 2 3】

前記第 1 の I g G 1 単量体のアミノ末端に抗体重鎖可変ドメインおよび C H 1 ドメインをさらに含む、請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 4】

前記第 1 の I g G 1 単量体のアミノ末端に s c F v をさらに含む、請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 5】

前記第 1 の I g G 1 F cドメイン単量体が、2 つまたは 4 つの逆電荷変異を含み、前記第 2 の I g G 1 F cドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、請求項 1 2 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2 6】

前記第 1 の I g G 1 F cドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含み、

前記第2の I g G 1 F c ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、請求項122に記載のポリペプチド。

【請求項127】

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第2の I g G 定常ドメイン単量体の両方が、改変された突起を形成する変異を含む、請求項122に記載のポリペプチド。

【請求項128】

第3のリンカーと、第3の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体、前記第2の I g G 1 F c ドメイン単量体、および前記第3の I g G 1 F c ドメイン単量体が各々、改変された突起を形成する変異を含む、

請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項129】

第3のリンカーと、第3の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第2の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第3の I g G 1 F c ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、

請求項122に記載のポリペプチド。

【請求項130】

第3のリンカーと、第3の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第2の I g G 1 ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、

請求項122に記載のポリペプチド。

【請求項131】

第3のリンカーと、第3の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第2の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第1の I g G 1 ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、

請求項122に記載のポリペプチド。

【請求項132】

改変された突起を形成する変異を含む前記 I g G 1 F c ドメイン単量体が、1、2、または3つの逆電荷変異をさらに含む、請求項122～131のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項133】

前記改変された突起を形成する変異および前記逆電荷変異が、前記 C H 3 ドメイン内にある、請求項122～131のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項134】

ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、およびC H 3 ドメインを含む第1の I g G 1 F c ドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、およびC H 3 ドメインを含む第2の I g G 1 F c ドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、C H 2 ドメイン、およびC H 3 ドメインを含む任意選択の第3の I g G 1 F c ドメイン単量体と

を含む、ポリペプチドであって、

少なくとも1つのF c ドメイン単量体が、1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、ポリペプチド。

【請求項135】

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体のアミノ末端に抗体重鎖可変ドメインおよびC H 1 ドメインをさらに含む、請求項134に記載のポリペプチド。

【請求項136】

前記第1の I g G 1 F c ドメイン単量体のアミノ末端にs c F vをさらに含む、請求

項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 3 7】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A に記載のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B に記載のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含み、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 3 8】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A に記載のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B に記載のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 3 9】

前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 2 の I g G 定常ドメイン単量体の両方が、表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 0】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体、前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体、および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が各々、表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む、
請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 1】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A または表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 3 の I g G 1 ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、
請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 2】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A または表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 2 の I g G 1 ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、
請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 3】

第 3 のリンカーと、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体および前記第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表 4 A または表 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第 1 の I g G 1 ドメイン単量体が、表 4 A 中のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 B 中のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含む、
請求項 1 3 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 4】

表 4 A または 4 B から選択される 1、2、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含む前記 I g G 1 F c ドメイン単量体が、同一の C H 3 ドメインを有する、請求項 1 3 4 ~ 1 4

3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 5】

表 4 A または 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異が、C H 3 ドメインにある、請求項 1 3 4 ～ 1 4 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 6】

前記変異が、E U の G 3 4 1 位～E U の K 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 7】

前記変異が各々、単一アミノ酸変化である、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 8】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1), GSGS (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GSGSGS (配列番号 9), GSGSGSGS (配列番号 10), GSGSGSGSGSGS (配列番号 11), GSGS (配列番号 2), GSGS (配列番号 2), GSGSGSGS (配列番号 12), GSGSGSGSGSGSGSGGGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGSGSGSSGSGSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GSGSGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS (配列番号 34), GGGSGGGSGGGGS (配列番号 35), SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG (配列番号 18), GSGSGSGGGSGGGSGGS (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), および GGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4 9】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが独立して、4 ～ 3 0 (配列番号 214)、4 ～ 2 0 (配列番号 217)、8 ～ 3 0 (配列番号 215)、8 ～ 2 0 (配列番号 218)、1 2 ～ 2 0 (配列番号 219)、または 1 2 ～ 3 0 個 (配列番号 216) のグリシン残基からなる、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 0】

前記第 2 のリンカーおよび前記任意選択の第 3 のリンカーが、2 0 個のグリシン残基 (配列番号 23) からなる、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 1】

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも 1 つが、E U の I 2 5 3 位に単一アミノ酸変異を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 2】

E U の I 2 5 3 位の各アミノ酸変異が独立して、I 2 5 3 A、I 2 5 3 C、I 2 5 3 D、I 2 5 3 E、I 2 5 3 F、I 2 5 3 G、I 2 5 3 H、I 2 5 3 I、I 2 5 3 K、I 2 5 3 L、I 2 5 3 M、I 2 5 3 N、I 2 5 3 P、I 2 5 3 Q、I 2 5 3 R、I 2 5 3 S、I 2 5 3 T、I 2 5 3 V、I 2 5 3 W、および I 2 5 3 Y からなる群から選択される、請求項 1 5 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 3】

I 2 5 3 位の各アミノ酸変異が、I 2 5 3 A である、請求項 1 5 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 4】

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも 1 つが、E U の R 2 9 2 位に単一アミノ酸変異を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 5】

E U の R 2 9 2 位の各アミノ酸変異が独立して、R 2 9 2 D、R 2 9 2 E、R 2 9 2 L、R 2 9 2 P、R 2 9 2 Q、R 2 9 2 R、R 2 9 2 T、および R 2 9 2 Y からなる群から選択される、請求項 1 5 4 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 6】

R 2 9 2 位の各アミノ酸変異が、R 2 9 2 P である、請求項 1 5 5 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 7】

各 F c ドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 220) および D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 221) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 8】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 221) を有する、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5 9】

前記第 1 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 222) を有する、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 0】

前記第 1 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 222) を有し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 221) を有する、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 1】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが独立して、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 2】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 5】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 6】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 7】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 8】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 6 9】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 0】

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 3 ドメインが独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 1】

前記単一アミノ酸置換が、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択される、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 2】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 3】

前記単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、前記 C H 3 ドメイン内の逆電荷変異である、請求項 9 9 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 4】

前記単一アミノ酸置換が、E U の G 3 4 1 位～E U の K 4 4 7 位（両端を含む）の配列内にある、請求項 1 7 3 に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 5】

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、および T 3 9 4 F からなる群から選択される、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 1 7 6】

前記 2 つまたは 4 つの逆電荷変異が、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R から選択される、請求項 1 2 2 ～ 1 4 5 のいずれか一項に記載

のポリペプチド。

【請求項 178】

前記 V H ドメインまたは s c F v が、表 1 に記載の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 配列のセットを含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 179】

前記 V H ドメインまたは s c F v が、表 2 に記載の抗体の配列を含む V H ドメインの C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 180】

前記 V H ドメインまたは s c F v が、表 2 に記載の抗体の V H 配列の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含み、前記 V H 配列が、前記 C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 の配列を除き、表 2 に記載の抗体の V H 配列と少なくとも 95% または 98% 同一である、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 181】

前記 V H ドメインまたは s c F v が、表 2 に記載の抗体の V H 配列を含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 182】

前記 V H ドメインまたは s c F v が、表 1 に記載の C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 配列のセットを含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 183】

前記 V H ドメインまたは s c F v が、表 2 に記載の抗体の V H 配列および V L 配列のセット由来の C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 配列を含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 184】

前記 V H ドメインまたは s c F v メインが、表 2 に記載の抗体の V H 配列の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含む V H ドメインと、表 2 に記載の抗体の V L 配列の C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 を含む V L ドメインと、を含み、前記 V H ドメイン配列および前記 V L ドメイン配列が、前記 C D R-H 1、C D R-H 2、C D R-H 3、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 の配列を除き、表 2 に記載の抗体の V H 配列および V L 配列と少なくとも 95% または 98% 同一である、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 185】

前記 V H ドメインまたは s c F v が、表 2 に記載の抗体の V H 配列および V L 配列のセットを含む、請求項 123、124、135、および 136 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 186】

I g G C L 抗体定常ドメインと、I g G C H 1 抗体定常ドメインと、をさらに含む、請求項 122～145 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 187】

請求項 2～187 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする、核酸分子。

【請求項 188】

請求項 187 に記載の核酸分子を含む、発現ベクター。

【請求項 189】

請求項 187 に記載の核酸分子を含む、宿主細胞。

【請求項 190】

請求項 188 に記載の発現ベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 191】

請求項 189 または 請求項 190 に記載の宿主細胞を、前記ポリペプチドを発現させる条件下で培養することを含む、請求項 2～187 のいずれか一項に記載のポリペプチドを産生する方法。

【請求項 192】

抗体 V L ドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項 189 に記載の宿主細胞。

【請求項 193】

抗体 V L ドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項 190 に記載の宿主細胞。

【請求項 194】

抗体 V L ドメインおよび抗体 C L ドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項 189 に記載の宿主細胞。

【請求項 195】

抗体 V L ドメインおよび抗体 C L ドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項 190 に記載の宿主細胞。

【請求項 196】

10 個以下の単一アミノ酸変異を有する I g G 1 F c ドメイン単量体を含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項 189 に記載の宿主細胞。

【請求項 197】

10 個以下の単一アミノ酸変異を有する I g G 1 F c ドメイン単量体を含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、請求項 190 に記載の宿主細胞。

【請求項 199】

前記 I g G 1 F c ドメイン単量体が、C H 3 ドメイン中に 10、8、6、または 4 つ以下の単一アミノ酸変異を有する配列番号 42、43、45、および 47 のいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 196 または 197 に記載の宿主細胞。

【請求項 200】

請求項 2～186 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、薬学的組成物。

【請求項 201】

前記ポリペプチドの 40%、30%、20%、10%、5%、2%未満が、F c ドメイン単量体上に少なくとも 1 つのフコース修飾を有する、請求項 200 に記載の薬学的組成物。

【請求項 202】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、または前記第 3 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 2 の F c ドメインを形成する、請求項 1 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 203】

前記単一Fcドメイン構築体が抗体である、請求項1または202に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項204】

Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が組み合わされて第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が組み合わされて第2のFcドメインを形成する、組成物。

【請求項205】

前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドもしくは前記第3のポリペプチドに結合されるか、または前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドに結合される、請求項204に記載の組成物。

【請求項206】

前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、および前記第3のポリペプチドに結合される、請求項204に記載の組成物。

【請求項207】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項208】

前記生物活性が、Fc受容体媒介性エフェクター機能である、請求項207に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項209】

前記Fc受容体媒介性エフェクター機能が、ADCCおよびADCPおよび／またはCDC活性である、請求項208に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項210】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する
スパーサー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、または前記第 3 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと
を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 2 の F c ドメインを形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 1】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドもしくは前記第 3 のポリペプチドに結合されるか、または前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドに結合される、請求項 2 0 2、2 0 7、または 2 1 0 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 2】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、および前記第 3 のポリペプチドに結合される、請求項 2 0 2、2 0 7、または 2 1 0 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 3】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、F a b である、請求項 1 および 2 0 2 ～ 2 1 2 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 4】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、前記第 1、第 2、または第 3 のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である、請求項 2 0 2 ～ 2 1 2 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 5】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、s c F v である、請求項 2 1 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 6】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、V_H ドメインおよび C_H 1 ドメインを含み、前記 V_H ドメインおよび C_H 1 ドメインが、前記第 1、第 2、または第 3 のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である、請求項 2 0 2 ～ 2 1 2 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 7】

前記 C D 3 8 結合ドメインが、V_L ドメインをさらに含む、請求項 2 1 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 8】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、前記 V_L ドメインを含む第 4 のポリペプチドを含む、請求項 2 1 7 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 1 9】

前記 V_H ドメインが、表 1 に記載の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 配列のセットを含む、請求項 2 1 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 2 0】

前記 V_H ドメインが、表 2 に記載の抗体の配列を含む V_H ドメインの $CDR-H1$ 、 $CDR-H2$ 、および $CDR-H3$ を含む、請求項 216 に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 221】

前記 V_H ドメインが、表 2 に記載の抗体の V_H 配列の $CDR-H1$ 、 $CDR-H2$ 、および $CDR-H3$ を含む、前記 V_H 配列が、前記 $CDR-H1$ 、 $CDR-H2$ 、および $CDR-H3$ 配列を除き、表 2 に記載の抗体の V_H 配列と少なくとも 95% 同一である、請求項 216 に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 222】

前記 V_H ドメインが、表 2 に記載の抗体の V_H 配列を含む、請求項 216 に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 223】

前記 $CD38$ 結合ドメインが、表 1 に記載される $CDR-H1$ 、 $CDR-H2$ 、 $CDR-H3$ 、 $CDR-L1$ 、 $CDR-L2$ 、および $CDR-L3$ の配列のセットを含む、請求項 1 および 202～215 のいずれか一項に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 224】

前記 $CD38$ 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V_H 配列および V_L 配列のセットからの $CDR-H1$ 、 $CDR-H2$ 、 $CDR-H3$ 、 $CDR-L1$ 、 $CDR-L2$ 、および $CDR-L3$ の配列を含む、請求項 1 および 202～215 のいずれか一項に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 225】

前記 $CD38$ 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V_H 配列の $CDR-H1$ 、 $CDR-H2$ 、および $CDR-H3$ を含む V_H ドメインと、表 2 に記載される抗体の V_L 配列の $CDR-L1$ 、 $CDR-L2$ 、および $CDR-L3$ を含む V_L ドメインと、を含み、前記 V_H ドメインの配列および前記 V_L ドメインの配列が、前記 $CDR-H1$ 、 $CDR-H2$ 、 $CDR-H3$ 、 $CDR-L1$ 、 $CDR-L2$ 、および $CDR-L3$ の配列を除き、表 2 に記載される抗体の前記 V_H 配列および V_L 配列に対して少なくとも 95% 同一である、請求項 1 および 202～215 のいずれか一項に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 226】

前記 $CD38$ 結合ドメインが、表 2 に記載される抗体の V_H 配列および V_L 配列のセットを含む、請求項 1 および 202～215 のいずれか一項に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 227】

$IgG-C_L$ 抗体定常ドメインおよび $IgG-C_H1$ 抗体定常ドメインをさらに含み、前記 $IgG-C_H1$ 抗体定常ドメインが、リンカーを介して前記第 1 のポリペプチドまたは前記第 2 のポリペプチドの N 末端に結合している、請求項 1 および 202～212 のいずれか一項に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 228】

前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 3 の Fc ドメイン単量体が、前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 202～227 のいずれか一項に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 229】

前記第 2 の Fc ドメイン単量体および前記第 4 の Fc ドメイン単量体が、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 202～228 のいずれか一項に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 230】

前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドが、同一のアミノ酸配列を有する、請求項 202～228 のいずれか一項に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 1】

前記二量体形成選択性モジュールが、前記 F c ドメイン単量体の一方の前記 C_H 3 ドメイン内に改変された空洞と、前記 F c ドメイン単量体の他方の前記 C_H 3 ドメイン内に改変された突起と、を含み、前記改変された空洞および前記改変された突起が、F c ドメイン単量体の空洞内突起対 (pro tuberance-int o-cavity pair) を形成するように配置されている、請求項 2 2 8 または 2 2 9 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 2】

前記改変された突起が、S 3 5 4 C、T 3 6 6 W、T 3 6 6 Y、T 3 9 4 W、T 3 9 4 F、および F 4 0 5 W からなる群から選択される少なくとも 1 つの修飾を含み、前記改変された空洞が、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V、Y 4 0 7 T、Y 4 0 7 A、F 4 0 5 A、および T 3 9 4 S からなる群から選択される少なくとも 1 つの修飾を含む、請求項 2 3 1 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 3】

前記 F c ドメイン単量体の一方が Y 4 0 7 V および Y 3 4 9 C を含み、前記 F c ドメイン単量体の他方が T 3 6 6 W および S 3 5 4 C を含む、請求項 2 2 8 または 2 2 9 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 4】

前記二量体形成選択性モジュールが、前記ドメイン単量体の一方の前記 C_H 3 ドメイン内に負に荷電したアミノ酸と、前記 F c ドメイン単量体の他方の前記 C_H 3 ドメイン内に正に荷電したアミノ酸と、を含み、前記負に荷電したアミノ酸および前記正に荷電したアミノ酸が、F c ドメインの形成を促進するように配置されている、請求項 2 2 8 または 2 2 9 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 5】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D 3 9 9 K と、K 4 0 9 D または K 4 0 9 E のいずれかとを含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 6】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K 3 9 2 D および D 3 9 9 K を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 7】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、E 3 5 7 K および K 3 7 0 E を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 8】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D 3 5 6 K および K 4 3 9 D を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 3 9】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K 3 9 2 E および D 3 9 9 K を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 0】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、E 3 5 7 K および K 3 7 0 D を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 1】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D 3 5 6 K および K 4 3 9 E を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 4 2】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、S 3 5 4 C および T 3 6 6 W を含み、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、Y 3 4 9 C、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、および Y 4 0 7 V を含む、請求項 2 3 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 251】

前記スパーサーが、グリシンスパーサーである、請求項 2 4 9 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 2】

前記スパーサーが、4～30 (配列番号 214)、8～30 (配列番号 215)、または 12～30 個 (配列番号 216) のグリシン残基からなる、請求項 2 5 1 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 3】

前記スパーサーが、20 個のグリシン残基 (配列番号 23) からなる、請求項 2 5 2 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 4】

前記 CD 3 8 結合ドメインが、リンカーにより前記 F c ドメイン単量体に結合される、請求項 1 および 2 0 2～2 1 2 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 5】

前記リンカーが、スパーサーである、請求項 2 5 4 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 6】

前記 F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I 2 5 3 位に少なくとも 1 つのアミノ酸修飾を含む、請求項 1 および 2 0 2～2 5 5 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 7】

I 2 5 3 位の前記アミノ酸修飾が独立して、I 2 5 3 A、I 2 5 3 C、I 2 5 3 D、I 2 5 3 E、I 2 5 3 F、I 2 5 3 G、I 2 5 3 H、I 2 5 3 I、I 2 5 3 K、I 2 5 3 L、I 2 5 3 M、I 2 5 3 N、I 2 5 3 P、I 2 5 3 Q、I 2 5 3 R、I 2 5 3 S、I 2 5 3 T、I 2 5 3 V、I 2 5 3 W、および I 2 5 3 Y からなる群から選択される、請求項 2 5 6 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 8】

I 2 5 3 位の各アミノ酸修飾が、I 2 5 3 A である、請求項 2 5 7 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 5 9】

前記 F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、R 2 9 2 位に少なくとも 1 つのアミノ酸修飾を含む、請求項 1 および 2 0 2～2 5 8 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 0】

R 2 9 2 位の各アミノ酸修飾が独立して、R 2 9 2 D、R 2 9 2 E、R 2 9 2 L、R 2 9 2 P、R 2 9 2 Q、R 2 9 2 R、R 2 9 2 T、および R 2 9 2 Y からなる群から選択される、請求項 2 5 9 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 1】

R 2 9 2 位の各アミノ酸修飾が、R 2 9 2 P である、請求項 2 6 0 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 2】

前記 F c ドメイン単量体のうちの 1 つ以上が、I g G ヒンジドメイン、I g G C_H 2 抗体定常ドメイン、および I g G C_H 3 抗体定常ドメインを含む、請求項 1 および 2 0 2～2 6 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 3】

前記 F c ドメイン単量体が各々、I g G ヒンジドメイン、I g G C_H 2 抗体定常ドメイン、および I g G C_H 3 抗体定常ドメインを含む、請求項 2 6 2 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 2 6 4】

前記 I g G が、I g G 1、I g G 2 a、I g G 2 b、I g G 3、および I g G 4 からなる群から選択されるサブタイプのものである、請求項 2 6 2 または 2 6 3 に記載の F c 抗

原結合ドメイン構築体。

【請求項 265】

前記第 1、第 2、第 3、および第 4 のポリペプチドの各々内の N 末端 A s p が、G l n に変異している、請求項 1 および 202～264 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 266】

前記第 1、第 2、第 3、および第 4 のポリペプチドのうちの 1 つ以上が、C 末端リシンを欠く、請求項 1 および 202～265 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 267】

前記第 1、第 2、第 3、および第 4 のポリペプチドが各々、C 末端リシンを欠く、請求項 266 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 268】

リンカーによって前記ポリペプチドのうちの 1 つ以上の N 末端または C 末端に結合されたアルブミン結合ペプチドをさらに含む、請求項 1 および 202～267 のいずれか一項に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 269】

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 %が、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、または前記第 3 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わされて第 2 の F c ドメインを形成する、細胞培養培地。

【請求項 270】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 75 %が、前記第 1 の F c ドメイン、前記第 2 の F c ドメイン、および前記 C D 38 結合ドメインを含む、請求項 269 に記載の細胞培養培地。

【請求項 271】

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 %が構造的に同一であり、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも 0.1 m g / L の濃度で前記培養培地中に存在する、細胞培養培地。

【請求項 272】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 75 %が構造的に同一である、請求項 271 に記載の細胞培養培地。

【請求項 273】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも 10 m g / L の濃度で前記培養培地中に存在する、請求項 269～272 のいずれか一項に記載の細胞培養培地。

【請求項 274】

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも 100 m g / L の濃度で前記培養培地

中に存在する、請求項 269～273 のいずれか一項に記載の細胞培養培地。

【請求項 275】

Fc 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

(2) 第 3 の Fc ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

(3) 第 4 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

(4) 抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記 CD38 結合ドメインが、前記第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、または第 3 のポリペプチドに結合され、それにより Fc 抗原結合ドメイン構築体を形成し、細胞培養上清中の前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50% が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項 276】

Fc 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の Fc ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体が組み合わせあって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体が組み合わせあって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメインおよび前記第 2 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、組成物。

【請求項 277】

前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 3 の Fc ドメイン単量体が、前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 の Fc ドメイン単量体および前記第 4 の Fc ドメイン単量体が、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、請求項 276 に記載の組成物。

【請求項 278】

前記第 2 の Fc ドメイン単量体および前記第 4 の Fc ドメイン単量体が各々、E357K および K370D を含み、前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 3 の Fc ドメ

ン単量体が各々、K 3 7 0 DおよびE 3 5 7 Kを含む、請求項 2 7 7 に記載の組成物。

【請求項 2 7 9】

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと、

f) 前記第 3 のポリペプチドに結合された第 3 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメイン、前記第 2 の抗原結合ドメイン、および前記第 3 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、組成物。

【請求項 2 8 0】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、請求項 2 7 9 に記載の組成物。

【請求項 2 8 1】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、E 3 5 7 KおよびK 3 7 0 Dを含み、前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K 3 7 0 DおよびE 3 5 7 Kを含む、請求項 2 8 0 に記載の組成物。

【請求項 2 8 2】

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i v) 第 3 の F c ドメイン単量体、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、組成物。

【請求項283】

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が各々、前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第2のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第4のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が各々、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項282に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項284】

Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、組成物。

【請求項285】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第3のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が各々、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項284に記載のFc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 286】

Fc 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

i i) 第 2 の Fc ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

i v) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー、および

v) 前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

v i) 第 4 の Fc ドメイン単量体、

v i i) 第 5 の Fc ドメイン単量体、

v i i i) 第 6 の Fc ドメイン単量体、

i x) 前記第 4 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体を結合する第 3 のリンカー、および

x) 前記第 5 の Fc ドメイン単量体と前記第 6 の Fc ドメイン単量体を結合する第 4 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の Fc ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の Fc ドメイン単量体を含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の Fc ドメイン単量体を含む第 6 のポリペプチドと、

g) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、前記第 4 のポリペプチド、前記第 5 のポリペプチド、または前記第 6 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 7 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 4 の Fc ドメイン単量体と前記第 8 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 3 の Fc ドメインを形成し、前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 9 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 4 の Fc ドメインを形成し、前記第 6 の Fc ドメイン単量体と前記第 10 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 5 の Fc ドメインを形成する、組成物。

【請求項 287】

前記第 2 の Fc ドメイン単量体および前記第 5 の Fc ドメイン単量体が各々、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 7 の Fc ドメイン単量体が各々、前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 7 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 4 の Fc ドメイン単量体および前記第 8 の Fc ドメイン単量体が各々、前記第 4 の Fc ドメイン単量体と前記第 8 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 3 の Fc ドメイン単量体および前記第 9 の Fc ドメイン単量体が各々、前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 9 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 6 の Fc ドメイン単量体および前記第 10 の Fc ドメイン単量体が各々、前記第 6 の Fc ドメイン単量体と前記第 10 の Fc ドメイン単量体との間の二量体形成を促進す

る相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 286 に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 288】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の Fc ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 1 および前記第 2 の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体が、単一 Fc ドメインと前記 CD38 結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (ADCP) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (CDC) アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 289】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体および前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の Fc ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 1 および前記第 2 の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体が、単一 Fc ドメインと前記 CD38 結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 290】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合する

スペーサー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメインおよび前記第 2 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 291】

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 % が、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または前記第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の抗原結合ドメインおよび前記第 2 の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、細胞培養培地。

【請求項 292】

F c 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

(2) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

(3) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

(4) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

(5) 前記第 2 のポリペプチドおよび／または第 3 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記 C D 38 結合ドメインが、前記第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、または第 3 のポリペプチドに結合され、それにより F c 抗原結合ドメイン構築体を形成し、前記第 1 および前記第 2 の抗原結合ド

メインが、異なる抗原に結合し、細胞培養上清中の前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 % が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項 293】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、請求項 288、289、290、291、または 292 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 294】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

ii) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと、

f) 前記第 3 のポリペプチドに結合された第 3 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 1、前記第 2、および前記第 3 の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 CD38 結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (ADCP) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (CDC) アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 295】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

ii) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

c) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

e) 前記第 2 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと、

f) 前記第 3 のポリペプチドに結合された第 3 の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単

量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1、前記第2、および前記第3の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項296】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合するスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、

f) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメイン、前記第2の抗原結合ドメイン、および前記第3の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項297】

Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、

f) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメイン、前記第2の抗原結合ドメイン、および前記第3の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、細胞培養培地。

【請求項298】

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

(2) 第 3 の F c ドメイン単量体を含む第 2 のポリペプチドと、

(3) 第 4 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

(4) 前記第 1 のポリペプチドに結合された第 1 の抗原結合ドメインと、

(5) 前記第 2 のポリペプチドに結合された第 2 の抗原結合ドメインと、

(6) 前記第 3 のポリペプチドに結合された第 3 の抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の F c ドメインを形成し、前記 C D 3 8 結合ドメインが、前記第 1 のポリペプチド、第 2 のポリペプチド、または第 3 のポリペプチドに結合され、それにより F c 抗原結合ドメイン構築体を形成し、前記第 1 および前記第 2 の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、細胞培養上清中の前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50 % が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項 299】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第 2 のポリペプチドおよび前記第 3 のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、請求項 294、295、296、297、または 298 に記載の組成物。

【請求項 300】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i v) 第 3 の F c ドメイン単量体、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 3 の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D 3 8 結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (A D C C) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (A D C P) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (C D C) アッセイにおいて強化

されたエフェクター機能を有する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項301】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が、組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項302】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 303】

Fc 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50% が、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

iv) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

v) 第 4 の Fc ドメイン単量体、および

vi) 前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の Fc ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 4 の Fc ドメイン単量体と前記第 6 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 3 の Fc ドメインを形成する、細胞培養培地。

【請求項 304】

Fc 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

(2) 第 2 のポリペプチドであって、

iv) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

v) 第 4 の Fc ドメイン単量体、および

vi) 前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 4 の Fc ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

(3) 第 5 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

(4) 第 6 の Fc ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

(5) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を発現する宿主細胞を培養することであって、

前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 4 の Fc ドメイン単量体と前記第 6 の Fc ドメイン単量体が組み合わさって第 3 の Fc ドメインを形成し、細胞培養上清中の前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも 50% が構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項 305】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 4 の F c ドメイン単量体および前記第 6 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 300、301、302、303、または 304 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 306】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

ii) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

iv) 第 3 の F c ドメイン単量体、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体、および

vi) 前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、または前記第 4 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 3 の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 CD38 結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (ADCP) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (CDC) アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 307】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

ii) 第 2 の F c ドメイン単量体、および

iii) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

iv) 第 3 の F c ドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第3のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項308】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が、組み合わせあって第3のFcドメインを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項309】

Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、細胞培養培地。

【請求項310】

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

(2) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

(3) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

(5) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を発現する宿主細胞を培養することであって、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成し、細胞培養上清中の前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記Fc抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項311】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第3のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が各々、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相

補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 306、307、308、309、または 310 に記載の Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 312】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、

iii) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

iv) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー、および

v) 前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体を結合する第 2 のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

vi) 第 4 の Fc ドメイン単量体、

vii) 第 5 の Fc ドメイン単量体、

viii) 第 6 の Fc ドメイン単量体、

ix) 前記第 4 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体を結合する第 3 のリンカー、および

x) 前記第 5 の Fc ドメイン単量体と前記第 6 の Fc ドメイン単量体を結合する第 4 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の Fc ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の Fc ドメイン単量体を含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の Fc ドメイン単量体を含む第 6 のポリペプチドと、

g) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、前記第 4 のポリペプチド、前記第 5 のポリペプチド、または前記第 6 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 5 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 1 の Fc ドメインを形成し、前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 7 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 2 の Fc ドメインを形成し、前記第 4 の Fc ドメイン単量体と前記第 8 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 3 の Fc ドメインを形成し、前記第 3 の Fc ドメイン単量体と前記第 9 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 4 の Fc ドメインを形成し、前記第 6 の Fc ドメイン単量体と前記第 10 の Fc ドメイン単量体が、組み合わさって第 5 の Fc ドメインを形成し、前記 Fc 抗原結合ドメイン構築体が、単一 Fc ドメインと前記 CD38 結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (ADCP) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (CDC) アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 313】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、

iii) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

iv) 前記第 1 の Fc ドメイン単量体と前記第 2 の Fc ドメイン単量体を結合する第 1 のリンカー、および

v) 前記第 2 の Fc ドメイン単量体と前記第 3 の Fc ドメイン単量体を結合する第 2

のリンカー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

v i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

v i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

v i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i x) 前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体を結合する第 3 のリンカー、および

x) 前記第 5 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体を結合する第 4 のリンカー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体を含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の F c ドメイン単量体を含む第 6 のポリペプチドと、

g) 前記第 1 のポリペプチド、前記第 2 のポリペプチド、前記第 3 のポリペプチド、前記第 4 のポリペプチド、前記第 5 のポリペプチド、または前記第 6 のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 1 の F c ドメインを形成し、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 2 の F c ドメインを形成し、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 3 の F c ドメインを形成し、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 4 の F c ドメインを形成し、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第 5 の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D 3 8 結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 3 1 4】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 2 の F c ドメイン単量体を結合する第 1 のスペーサー、および

v) 前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体を結合する第 2 のスペーサー

を含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

v i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

v i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

v i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i x) 前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体を結合する第 3 のスペーサー、および

x) 前記第 5 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体を結合する第 4 のスペーサー

を含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体が組み合わさって第4のFcドメインを形成し、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体が組み合わさって第5のFcドメインを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項315】

Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第3のFcドメイン単量体、

iv) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のスペーサー、および

v) 前記第2のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

vi) 第4のFcドメイン単量体、

vii) 第5のFcドメイン単量体、

viii) 第6のFcドメイン単量体、

ix) 前記第4のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体を結合する第3のスペーサー、および

x) 前記第5のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体を結合する第4のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体が組み合わさって第4のFcドメインを形成し、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体が組み合わさって第5のFcドメインを形成する、細胞培養培地。

【請求項316】

F c 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のF cドメイン単量体、

i i) 第2のF cドメイン単量体、

i i i) 第3のF cドメイン単量体、

i v) 前記第1のF cドメイン単量体と前記第2のF cドメイン単量体を結合する第1のスペーサー、および

v) 前記第2のF cドメイン単量体と前記第3のF cドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

(2) 第2のポリペプチドであって、

v i) 第4のF cドメイン単量体、

v i i) 第5のF cドメイン単量体、

v i i i) 第6のF cドメイン単量体、

i x) 前記第4のF cドメイン単量体と前記第5のF cドメイン単量体を結合する第3のスペーサー、および

x) 前記第5のF cドメイン単量体と前記第6のF cドメイン単量体を結合する第4のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

(3) 第7のF cドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 第8のF cドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

(5) 第9のF cドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

(6) 第10のF cドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

(7) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、第4のポリペプチド、第5のポリペプチド、または第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第2のF cドメイン単量体と前記第5のF cドメイン単量体が、組み合わせあって第1のF cドメインを形成し、前記第1のF cドメイン単量体と前記第7のF cドメイン単量体が、組み合わせあって第2のF cドメインを形成し、前記第4のF cドメイン単量体と前記第8のF cドメイン単量体が、組み合わせあって第3のF cドメインを形成し、前記第3のF cドメイン単量体と前記第9のF cドメイン単量体が、組み合わせあって第4のF cドメインを形成し、前記第6のF cドメイン単量体と前記第10のF cドメイン単量体が、組み合わせあって第5のF cドメインを形成し、細胞培養上清中の前記F c抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記F c抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

【請求項317】

前記第2のF cドメイン単量体および前記第5のF cドメイン単量体が各々、前記第2のF cドメイン単量体と前記第5のF cドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1のF cドメイン単量体および前記第7のF cドメイン単量体が各々、前記第1のF cドメイン単量体と前記第7のF cドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第4のF cドメイン単量体および前記第8のF cドメイン単量体が各々、前記第4のF cドメイン単量体と前記第8のF cドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第3のF cドメイン単量体および前記第9のF cドメイン単量体が各々、前記第3のF cドメイン単量体と前記第9のF cドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第 6 の F c ドメイン単量体および前記第 10 の F c ドメイン単量体が各々、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、請求項 312、313、314、315、または 316 に記載の F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 318】

1 つ以上の前記 F c ドメイン単量体が、先行する請求項のいずれか一項に記載の抗原結合構築物またはポリペプチド。

【請求項 319】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第 1 および第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第 3 および第 4 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインを含む第 6 のポリペプチドと

を含み、

第 1 および第 3 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 5 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 4 および第 6 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメインと第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 320】

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 319 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 321】

前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 319 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 322】

前記第 5 のポリペプチドおよび前記第 6 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 319 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 323】

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 5 のポリペプチドおよび前記第 6 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 319 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 324】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 319～323 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 2 5】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、ヒト I g G 1 のアミノ酸配列と比較して、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 1 9～3 2 3 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 2 6】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10、8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 3 1 9～3 2 3 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 2 7】

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H 3 ドメイン内のみにある、請求項 3 2 4～3 2 6 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン単量体。

【請求項 3 2 8】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 3 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 1 9～3 2 3 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 2 9】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 4 の F c ドメイン単量体および前記第 6 の F c ドメイン単量体が、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 1 9～3 2 3 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 3 0】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 3 2 8 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 3 1】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 3 2 9 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 3 2】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第 1 および第 2 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第 3 および第 4 の F c ドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体と第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 4 のポリペプチドとを含む、

第1および第3のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第2および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第4および第6のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項333】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、および

iv) 前記第1および第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第3のFcドメイン単量体、

ii) 第4のFcドメイン単量体、

iii) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および

iv) 前記第3および第4のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、

f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと

を含み、

前記第1および第5のFcドメイン単量体が、一緒になって第1のFcドメインを形成し、前記第3および第6のFcドメイン単量体が、一緒になって第2のFcドメインを形成し、前記第2および第4のFc単量体が、一緒になって第3のFcドメインを形成し、前記第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインが、一緒になって第1のFabを形成し、前記第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインが、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項334】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、請求項333に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項335】

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、請求項333に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項336】

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項333に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項337】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項333に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項338】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項333～337のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項339】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、ヒト I g G 1 のアミノ酸配列と比較して、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 0】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10、8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 1】

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H 3 ドメイン内のみにある、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン単量体。

【請求項 3 4 2】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 3】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 6 の F c ドメイン単量体が、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 3 3 ～ 3 3 7 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 4】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 3 4 2 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 5】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 3 4 3 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 4 6】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 6 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

- c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
- d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、
- e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、
- f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、
- g) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第7のポリペプチドと、
- h) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第8のポリペプチドと

を含み、

第1および第7のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第4および第8のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2および第5のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第3および第9のFcドメイン単量体は、一緒になって第4のFcドメインを形成し、第6および第10のFc単量体は、一緒になって第5のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項347】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、請求項346に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項348】

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、請求項346に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項349】

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項346に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項350】

前記第7のポリペプチドおよび前記第8のポリペプチドの配列が同一である、請求項346に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項351】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一であり、前記第7のポリペプチドおよび前記第8のポリペプチドの配列が同一である、請求項346に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項352】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項346～351のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項353】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項346～351のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項354】

前記Fcドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項346～351のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項355】

前記単一アミノ酸置換が、前記CH3ドメイン内のみにある、請求項346～351のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン単量体。

【請求項356】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 5 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 4 6 ～ 3 5 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 7】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 7 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 4 の F c ドメイン単量体および前記第 8 の F c ドメイン単量体が、前記第 4 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 9 の F c ドメイン単量体が、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 6 の F c ドメイン単量体および前記第 10 の F c ドメイン単量体が、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 4 6 ～ 3 5 1 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 8】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 3 5 7 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 5 9】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 3 5 8 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 6 0】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 1 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 5 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 6 の F c ドメイン単量体、

i v) 第 2 の C D 3 8 重鎖結合ドメイン、

v) 第 4 の F c ドメイン単量体と第 5 の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 6 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の F c ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の F c ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の F c ドメイン単量体と第 1 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の F c ドメイン単量体と第 2 の C D 3 8 軽鎖結合ドメインとを含む第 6 のポリペプチドと

を含み、

第1および第7のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第4および第8のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2および第5のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第3および第9のFcドメイン単量体は、一緒になって第4のFcドメインを形成し、第6および第10のFc単量体は、一緒になって第5のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項361】

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第3のFcドメイン単量体、

iv) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、

v) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第4のFcドメイン単量体、

ii) 第5のFcドメイン単量体、

iii) 第6のFcドメイン単量体、

iv) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、

v) 第4のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第5のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第7のポリペプチドと、

h) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第8のポリペプチドと

を含み、

第1および第4のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第2および第7のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第5および第8のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第3および第9のFcドメイン単量体は、一緒になって第4のFcドメインを形成し、第6および第10のFc単量体は、一緒になって第5のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項362】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、請求項361に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項363】

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、請求項361に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 6 4】

前記第 5 のポリペプチドおよび前記第 6 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 6 1 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 6 5】

前記第 7 のポリペプチドおよび前記第 8 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 6 1 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 6 6】

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 5 のポリペプチドおよび前記第 6 のポリペプチドの配列が同一であり、前記第 7 のポリペプチドおよび前記第 8 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 3 6 1 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 6 7】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 6 1 ～ 3 6 6 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 6 8】

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H 3 ドメインが、ヒト I g G 1 のアミノ酸配列と比較して、最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 6 1 ～ 3 6 6 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 6 9】

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大 10、8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項 3 6 1 ～ 3 6 6 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 7 0】

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H 3 ドメイン内のみにある、請求項 3 6 1 ～ 3 6 6 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン単量体。

【請求項 3 7 1】

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、前記第 1 の F c ドメイン単量体と前記第 4 の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 6 1 ～ 3 6 6 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 7 2】

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 7 の F c ドメイン単量体が、前記第 2 の F c ドメイン単量体と前記第 7 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 5 の F c ドメイン単量体および前記第 8 の F c ドメイン単量体が、前記第 5 の F c ドメイン単量体と前記第 8 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 9 の F c ドメイン単量体が、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 9 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 6 の F c ドメイン単量体および前記第 10 の F c ドメイン単量体が、前記第 6 の F c ドメイン単量体と前記第 10 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 3 6 1 ～ 3 6 6 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 3 7 3】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 3 7 1 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 374】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 372 に記載の Fc 抗原ドメイン構築体。

【請求項 375】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、

iii) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

iv) 第 1 の CD38 重鎖結合ドメイン、

v) 第 1 の Fc ドメイン単量体と第 2 の Fc ドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第 2 の Fc ドメイン単量体と第 3 の Fc ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 4 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 5 の Fc ドメイン単量体、

iii) 第 6 の Fc ドメイン単量体、

iv) 第 2 の CD38 重鎖結合ドメイン、

v) 第 4 の Fc ドメイン単量体と第 5 の Fc ドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第 5 の Fc ドメイン単量体と第 6 の Fc ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 7 の Fc ドメイン単量体を含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 8 の Fc ドメイン単量体を含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 9 の Fc ドメイン単量体と第 1 の CD38 軽鎖結合ドメインとを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 10 の Fc ドメイン単量体と第 2 の CD38 軽鎖結合ドメインとを含む第 6 のポリペプチドと

を含み、

第 1 および第 4 の Fc ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の Fc ドメインを形成し、第 2 および第 7 の Fc ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の Fc ドメインを形成し、第 5 および第 8 の Fc 単量体は、一緒になって第 3 の Fc ドメインを形成し、第 3 および第 9 の Fc ドメイン単量体は、一緒になって第 4 の Fc ドメインを形成し、第 6 および第 10 の Fc 単量体は、一緒になって第 5 の Fc ドメインを形成し、第 1 の CD38 重鎖結合ドメインと第 1 の CD38 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の Fab を形成し、第 2 の CD38 重鎖結合ドメインと第 2 の CD38 軽鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の Fab を形成する、Fc 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 376】

Fc 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 2 の Fc ドメイン単量体、

iii) 第 1 の Fc ドメイン単量体と第 2 の Fc ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 3 の Fc ドメイン単量体、

ii) 第 4 の Fc ドメイン単量体、

iii) 第 3 の Fc ドメイン単量体と第 4 の Fc ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体と第1のCD38重鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体第2のCD38重鎖結合ドメインを含む第4のポリペプチドと、

e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、

f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドとを含む、

第1および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第3および第6のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2および第4のFcドメイン単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

【請求項377】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、請求項202に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項378】

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、請求項202に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項379】

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項202に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項380】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、請求項202に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項381】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項376～380のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項382】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項376～380のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項383】

前記Fcドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項376～380のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項384】

前記単一アミノ酸置換が、前記CH3ドメイン内のみにある、請求項376～380のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン単量体。

【請求項385】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項376～380のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項386】

前記第1のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が、前記第1のF

c ドメイン単量体と前記第 5 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含み、前記第 3 の F c ドメイン単量体および前記第 6 の F c ドメイン単量体が、前記第 3 の F c ドメイン単量体と前記第 6 の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大 8、7、6、5、4、3、2、または 1 つの単一アミノ酸置換を含む、請求項 376～380 のいずれか一項に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 387】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表 4 A および表 4 B 中の置換から選択される、請求項 385 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 388】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表 3 中の置換から選択される、請求項 386 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 389】

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第 1 のポリペプチドであって、

i) 第 1 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 2 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 1 の C D 38 重鎖結合ドメイン、および

i v) 第 1 の F c ドメイン単量体と第 2 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 1 のポリペプチドと、

b) 第 2 のポリペプチドであって、

i) 第 3 の F c ドメイン単量体、

i i) 第 4 の F c ドメイン単量体、

i i i) 第 2 の C D 38 重鎖結合ドメイン、および

i v) 第 3 の F c ドメイン単量体と第 4 の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第 2 のポリペプチドと、

c) 第 5 の F c ドメイン単量体と第 3 の C D 38 重鎖結合ドメインとを含む第 3 のポリペプチドと、

d) 第 6 の F c ドメイン単量体と第 4 の C D 38 軽鎖結合ドメインとを含む第 4 のポリペプチドと、

e) 第 1 の C D 38 軽鎖結合ドメインを含む第 5 のポリペプチドと、

f) 第 2 の C D 38 軽鎖結合ドメインを含む第 6 のポリペプチドと、

g) 第 3 の C D 38 軽鎖結合ドメインを含む第 7 のポリペプチドと、

h) 第 4 の C D 38 軽鎖結合ドメインを含む第 8 のポリペプチドと

を含み、

第 1 および第 5 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 1 の F c ドメインを形成し、第 3 および第 6 の F c ドメイン単量体は、一緒になって第 2 の F c ドメインを形成し、第 2 および第 4 の F c 単量体は、一緒になって第 3 の F c ドメインを形成し、第 1 の C D 38 軽鎖結合ドメインと第 3 の C D 38 重鎖結合ドメインは、一緒になって第 1 の F a b を形成し、第 2 の C D 38 軽鎖結合ドメインと第 4 の C D 38 重鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成し、第 3 の C D 38 軽鎖結合ドメインと第 1 の C D 38 重鎖結合ドメインは、一緒になって第 3 の F a b を形成し、第 4 の C D 38 軽鎖結合ドメインと第 2 の C D 38 重鎖結合ドメインは、一緒になって第 2 の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

【請求項 390】

前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 389 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 391】

前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドの配列が同一である、請求項 389 に記載の F c 抗原ドメイン構築体。

【請求項 392】

前記第5のポリペプチド、前記第6のポリペプチド、前記第7のポリペプチド、および前記第8のポリペプチドの配列が同一である、請求項389に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 393】

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチド、前記第6のポリペプチド、前記第7のポリペプチド、および前記第8のポリペプチドの配列が同一である、請求項389に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 394】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 395】

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 396】

前記Fcドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 397】

前記単一アミノ酸置換が、前記CH3ドメイン内のみにある、請求項389～393のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン単量体。

【請求項 398】

前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 399】

前記第1および第5のFcドメイン単量体が、前記第1および第5のFcドメイン単量体間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第3および第6のFcドメイン単量体が、前記第3および第6のFcドメイン単量体間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、請求項389～393のいずれか一項に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 400】

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、請求項398に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 401】

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表3中の置換から選択される、請求項399に記載のFc抗原ドメイン構築体。

【請求項 402】

各リンカーが、

【請求項 4 1 0】

先行する請求項のいずれか一項に記載の前記構築体を含む組成物を投与することを含む、癌または自己免疫疾患を治療する方法。

【請求項 4 1 1】

前記癌が、血液学的悪性腫瘍および／または固形腫瘍からなる適応症の群から選択される、請求項 4 1 0 に記載の方法。

【請求項 4 1 2】

前記癌が、胃癌、乳癌、結腸癌、肺癌、マンツル細胞リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、NK細胞白血病、NK／T細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、形質細胞白血病、および多発性骨髄腫などから選択される、請求項 4 1 0 に記載の方法。

【請求項 4 1 3】

前記癌が、ダラツムマブまたは任意の他の治療用抗CD38モノクローナル抗体治療に耐性である、請求項 4 1 1 または 4 1 2 に記載の方法。

【請求項 4 1 4】

前記自己免疫疾患が、以下の自己抗体介在性疾患：重症筋無力症（MG）、MuSK-MG、心筋炎、ランバート・イートン、筋無力症候群、神経ミオトニー、視神経脊髄炎、ナルコレプシー、急性運動性軸索型ニューロパチー、ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群、急性感覚失調性ニューロパチー、傍腫瘍性スティッフパーソン症候群、慢性ニューロパチー、末梢ニューロパチー、急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、膜性腎症、糸球体腎炎、肺胞蛋白症、CIPD、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性血小板減少性紫斑病、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、水疱性類天疱瘡、妊娠性類天疱瘡、後天性表皮水疱症、新生児エリテマトーデス、疱疹状皮膚炎、グレーブス病、アディソン病、卵巣機能不全症、自己免疫性精巣炎、シェーグレン症候群、自己免疫性胃炎、関節リウマチ、SLE、ドライアイ疾患、血管炎（急性）、心臓炎、抗体関連型拒絶反応からなる群から選択される、請求項 4 1 1 に記載の方法。

【請求項 4 1 5】

前記悪性腫瘍が、形質芽球および形質細胞が病因を駆動する以下の疾患：ALアミロイドーシス、キャッスルマン病、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症（MGUS）、意義不明の二クローン性ガンマグロブリン血症、骨硬化性骨髄腫（POEMS症候群）、重鎖疾患、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫からなる群から選択される、請求項 4 1 1 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0026

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0026】

本開示の第 4、第 5、第 6、および第 7 の態様のいくつかの実施形態では、Fc 抗原結合ドメイン構築体中の 1 つ以上のリンカーは、スペーサーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1), GGSG (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GGS GGS (配列番号 9), GGS GGS GGS (配列番号 10), GGS GGS GGS GGS (配列番号 11), GGSG (配列番号 2), GGSG (配列番号 2), GGS GGS GGS (配列番号 12), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 34), GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 35), SGGGSGGSGGSGGSGGSGGSGG (配列番号 18), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), または GGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、スペーサーは、グリシンスペーサー、例えば、4～30 (配列番号 214)、8～30 (配列番号 215)、または12～30個 (配列番号 216) のグリシン残基からなるスペーサー、例えば、20個のグリシン残基 (配列番号 23) からなるスペーサーである。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0051

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0051】

本開示の第9および第10の態様のいくつかの実施形態では、Fc抗原結合ドメイン構築体中の1つ以上のリンカーは、スペーサーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1), GGSG (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GGS GGS (配列番号 9), GGS GGS GGS (配列番号 10), GGS GGS GGS GGS (配列番号 11), GGSG (配列番号 2), GGSG (配列番号 2), GGS GGS GGS (配列番号 12), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 34), GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 35), SGGGSGGSGGSGGSGGSGGSGG (配列番号 18), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), または GGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、スペーサーは、グリシンスペーサー、例えば、4～30 (配列番号 214)、8～30 (配列番号 215)、または12～30個 (配列番号 216) のグリシン残基からなるスペーサー、例えば、20個のグリシン残基 (配列番号 23) からなるスペーサーである。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 6

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 7 6 】

本開示の第 1 1 および第 1 2 の態様のいくつかの実施形態では、Fc 抗原結合ドメイン構築体中の 1 つ以上のリンカーは、スペーサーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1), GGSG (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GGS GGS (配列番号 9), GGS GGS GGS (配列番号 10), GGS GGS GGS GGS (配列番号 11), GGSG (配列番号 2), GGSG (配列番号 2), GGS GGS GGS GGS (配列番号 12), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 34), GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 35), SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG (配列番号 18), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), または GGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

を有するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、スペーサーは、グリシンスペーサー、例えば、4 ～ 3 0 (配列番号 2 1 4)、8 ～ 3 0 (配列番号 2 1 5)、または 1 2 ～ 3 0 個 (配列番号 2 1 6) のグリシン残基からなるスペーサー、例えば、2 0 個のグリシン残基 (配列番号 2 3) からなるスペーサーである。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 9 8

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 9 8 】

本開示の第 1 3、第 1 4、および第 1 5 の態様のいくつかの実施形態では、Fc 抗原結合ドメイン構築体中の 1 つ以上のリンカーは、スペーサーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1), GGSG (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GGS GGS (配列番号 9), GGS GGS GGS (配列番号 10), GGS GGS GGS GGS (配列番号 11), GGSG (配列番号 2), GGSG (配列番号 2), GGS GGS GGS GGS (配列番号 12), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 34), GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 35), SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG (配列番号 18), GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS GGS (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), または GGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

【 0 1 2 3 】

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、グリシンスペーサーであり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、独立して、4～30 (配列番号214)、4～20 (配列番号217)、8～30 (配列番号215)、8～20 (配列番号218)、12～20 (配列番号219)、または12～30個 (配列番号216)のグリシン残基からなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、20個のグリシン残基 (配列番号23) からなり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのI253位に単一アミノ酸変異を含み、EUナンバリングのI253位の各アミノ酸変異は、独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択され；I253位の各アミノ酸変異は、I253Aであり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのR292位に単一アミノ酸変異を含み；EUナンバリングのR292位の各アミノ酸変異は、独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択され；R292位の各アミノ酸変異は、R292Pであり；各Fcドメイン単量体は、独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELL (配列番号220) およびDKTHTCPPCPAPELL (配列番号221) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTHTCPPCPAPELL (配列番号221) を有し；第1

の F c ドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L (配列番号 2 2 2) を有し；第 1 の F c ドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L (配列番号 2 2 2) を有し、第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 2 2 1) を有し；各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは、独立して、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含み、単一アミノ酸置換は、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択され；F c ドメイン単量体の各々は、独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、C H 3 ドメイン中の逆電荷変異であるか、または改変突起を形成する変異であり；単一アミノ酸置換は、E U ナンバリングの G 3 4 1 位～E U ナンバリングの K 4 4 7 位（両端を含む）配列内にあり；改変突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、および T 3 9 4 F からなる群から選択され；2 つまたは 4 つの逆電荷変異は、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R から選択され；C D 3 8 結合ドメインは、s c F v であり；C D 3 8 結合ドメインは、V H ドメインおよび C H 1 ドメインを含み；C D 3 8 結合ドメインは、V L ドメインをさらに含み；V H

ドメインは、表 1 に記載される C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 のセットを含み；V H ドメインは、表 2 に記載される抗体の配列を含む V H ドメインの C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含み；V H ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含み、V H 配列は、C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列に対して少なくとも 95% または 98% 同一であり；V H ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列を含み；C D 38 結合ドメインは、表 1 に記載される C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 の配列のセットを含み；C D 38 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列と V L 配列のセットからの C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 の配列を含み；C D 38 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含む V H ドメインと、表 2 に記載される抗体の V L 配列の C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 を含む V L ドメインと、を含み、この場合において V H ドメインの配列および V L ドメインの配列は、C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列および V L 配列に対して少なくとも 95% または 98% 同一であり；C D 38 結合ドメインは、表 2 に記載される抗体の V H 配列と V L 配列のセットを含み；C D 38 結合ドメインは、I g G C L 抗体定常ドメインおよび I g G C H 1 抗体定常ドメインを含み；C D 38 結合ドメインは、V H ドメインおよび C H 1 ドメインを含み、V L ドメインおよび C L ドメインを含むポリペプチドに結合して、F a b を形成することができる。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0128

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0128】

第 42 の態様の様々な実施形態では、C D 38 結合ドメインは、抗体重鎖可変ドメインを含み；C D 38 結合ドメインは、抗体軽鎖可変ドメインを含み；第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体は、表 4 A および 4 B に記載のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 A および 4 B に記載のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含み、第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体は、表 4 A および 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み；第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体は、表 4 A および 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体は、表 4 A および 4 B に記載のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 A および 4 B に記載のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含み；第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体と第 2 の I g G 定常ドメイン単量体の両方が、表 4 A および 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み；ポリペプチドは、第 3 のリンカーと第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体、第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体、および第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、各々、表 4 A および 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み；ポリペプチドは、第 3 のリンカーと第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体と第 2 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が、各々、表 4 A および 4 B から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの逆電荷アミノ酸変異を含み、第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体が、表 4 A および 4 B に記載のものから選択される 2 つの逆電荷変異のセット、または表 4 A および 4 B に記載のものから選択される 4 つの逆電荷変異のセットを含み；ポリペプチドは、第 3 のリンカーと第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第 1 の I g G 1 F c ドメイン単量体と第 3 の I g G 1 F c ドメイン単量体の両方が、各々、表

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1), GSGS (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GSGSGS (配列番号 9), GSGSGSGS (配列番号 10), GSGSGSGSGSGS (配列番号 11), GSGS (配列番号 2), GSGS (配列番号 2), GSGSGSGS (配列番号 12), GSGGGSGGGSGGGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS (配列番号 34), GGGSGGGSGGGGS (配列番号 35), SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG (配列番号 18), GGSGGGSGGGSGGGSGGS (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), および GGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

かなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、グリシンスペーサーであり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、独立して、4～30 (配列番号214)、4～20 (配列番号217)、8～30 (配列番号215)、8～20 (配列番号218)、12～20 (配列番号219)、または12～30個 (配列番号216)のグリシン残基からなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、20個のグリシン残基 (配列番号23) からなり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのI253位に単一アミノ酸変異を含み、EUナンバリングのI253位の各アミノ酸変異は、独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択され；I253位の各アミノ酸変異は、I253Aであり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのR292位に単一アミノ酸変異を含み；EUナンバリングのR292位の各アミノ酸変異は、独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択され；R292位の各アミノ酸変異は、R292Pであり；各Fcドメイン単量体は、独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELL (配列番号220) およびDKTHTCPPCPAPELL (配列番号221) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒン

ジ部分は、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 2 2 1) を有し；第 1 の F c ドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L (配列番号 2 2 2) を有し；第 1 の F c ドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L (配列番号 2 2 2) を有し、第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 2 2 1) を有し；各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは、独立して、2 つ以下の単一アミノ酸欠の失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号224)

を含み、単一アミノ酸置換は、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択され；F c ドメイン単量体の各々は、独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、C H 3 ドメイン中の逆電荷変異であるか、または改変突起を形成する変異であり；単一アミノ酸置換は、E U ナンバリングの G 3 4 1 位～E U ナンバリングの K 4 4 7 位（両端を含む）配列内にあり；改変突起を形成する変異のうちの少なくとも 1 つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、および T 3 9 4 F からなる群から選択され；2 つまたは 4 つの逆電荷変異は、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R から選択され；C D 3 8 結合ドメインは、s c F v であり；C D 3 8 結合ドメインは、V H ドメインお

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、グリシンスペースーであり；第2のリンカーと任意選択

の第3のリンカーは、独立して、4～30(配列番号214)、4～20(配列番号217)、8～30(配列番号215)、8～20(配列番号218)、12～20(配列番号219)、または12～30個(配列番号216)のグリシン残基からなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、20個のグリシン残基(配列番号23)からなり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUNアンバリングのI253位に単一アミノ酸変異を含み、EUNアンバリングのI253位の各アミノ酸変異は、独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択され；I253位の各アミノ酸変異は、I253Aであり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUNアンバリングのR292位に単一アミノ酸変異を含み；EUNアンバリングのR292位の各アミノ酸変異は、独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択され；R292位の各アミノ酸変異は、R292Pであり；各Fcドメイン単量体は、独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELL(配列番号220)およびDKTHTCTPPCPAPELL(配列番号221)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTCTPPCPAPELL(配列番号221)を有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCTPPCPAPEL(配列番号222)を有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCTPPCPAPEL(配列番号222)を有し、第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTCTPPCPAPELL(配列番号221)を有し；各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは、独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(配列番号223)

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(配列番号223)

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、2つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(配列番号223)

を含み、各Fcドメイン単量体のCH2ドメインは同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK(配列番号223)

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、10個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(配列番号224)

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、8つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(配列番号224)

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、6つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(配列番号224)

を含み、各Fcドメイン単量体のCH3ドメインは独立して、5つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号224)

を含み、単一アミノ酸置換は、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、およびD 3 5 6 Rからなる群から選択され；Fcドメイン単量体の各々は、独立して、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換のうちの最大6つが、CH3ドメイン中の逆電荷変異であるか、または改変突起を形成する変異であり；単一アミノ酸置換は、EUナンバリングのG 3 4 1 位～EUナンバリングのK 4 4 7 位（両端を含む）配列内にあり；改変突起を形成する変異のうちの少なくとも1つが、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、およびT 3 9 4 Fからなる群から選択され；2つまたは4つの逆電荷変異は、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、およびD 3 5 6 Rから選択される。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0135

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0135】

第44の態様の様々な実施形態では、ポリペプチドは、第1のIgG1 Fcドメイン単量体に対してアミノ末端である抗体重鎖可変ドメインおよびCH1ドメイン、または第1のIgG1 Fcドメイン単量体に対してアミノ末端であるscFvをさらに含み；第1のIgG1 Fcドメイン単量体は、表4Aおよび4Bに記載のもののから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Aおよび4Bに記載のもののから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み、第2のIgG1 Fcドメイン単量体は、表4aおよび4bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み；第1のIgG1 Fcドメイン単量体は、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、第2のIgG1 Fcドメイン単量体は、表4Aおよび4Bに記載のもののから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Aおよび4Bに記載のもののから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み；第1のIgG1 Fcドメイン単量体と第2のIgG定常ドメイン単量体の両方が、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1 Fcドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第1のIgG1 Fcドメイン単量体、第2のIgG1 Fcドメイン単量体、および第3のIgG1 Fcドメイン単量体が、各々、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1 Fcドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第1のIgG1 Fcドメイン単量体と第2のIgG1 Fcドメイン単量体の両方が、各々、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、第3のIgG1 Fcドメイン単量体が、表4Aおよび4Bに記載のもののから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Aおよび4Bに記載のもののから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み；ポリペプチドは、第3のリンカーと第3のIgG1 Fcドメイン単量体とをさらに含み、この場合において第1のIgG1 Fcドメイン単量体と第3のIgG1 Fcドメイン単量体の両方が、各々、表4Aおよび4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、第2のIgG1ドメイン単量体が、表4Aおよび4Bに記載のもののから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Aおよび4Bに記載のもののから選択さ

号 1), GSGG (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GSGSGS (配列番号 9), GSGSGSGGS (配列番号 10), GSGSGSGSGSGS (配列番号 11), GSGG (配列番号 2), GSGG (配列番号 2), GSGGGSGG (配列番号 12), GSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (配列番号 213), GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30), RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33), GSGSGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS (配列番号 34), GGGSGGGS GGGS (配列番号 35), SGGGSGGGS GGGS GGGS GGGS (配列番号 18), GSGGSGGGS GGGS GGGS (配列番号 36), GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), および GGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、グリシンスパーサーであり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、独立して、4～30 (配列番号214)、4～20 (配列番号217)、8～30 (配列番号215)、8～20 (配列番号218)、12～20 (配列番号219)、または12～30個 (配列番号216)のグリシン残基からなり；第2のリンカーと任意選択の第3のリンカーは、20個のグリシン残基 (配列番号23) からなり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのI253位に単一アミノ酸変異を含み、EUナンバリングのI253位の各アミノ酸変異は、独立して、I253A、I253C、I253D、I253E、I253F、I253G、I253H、I253I、I253K、I253L、I253M、I253N、I253P、I253Q、I253R、I253S、I253T、I253V、I253W、およびI253Yからなる群から選択され；I253位の各アミノ酸変異は、I253Aであり；少なくとも1つのFcドメイン単量体は、EUナンバリングのR292位に単一アミノ酸変異を含み；EUナンバリングのR292位の各アミノ酸変異は、独立して、R292D、R292E、R292L、R292P、R292Q、R292R、R292T、およびR292Yからなる群から選択され；R292位の各アミノ酸変異は、R292Pであり；各Fcドメイン単量体は、独立して、EPKSCDKTHTCPPCPAPELL (配列番号220) およびDKTHTCPPCPAPELL (配列番号221) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列DKTHTHTCPPCPAPELL (配列番号221) を有し；第1のFcドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列EPKSCDKTHTHTCPPCPA

P E L (配列番号 2 2 2) を有し；第 1 の F c ドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L (配列番号 2 2 2) を有し、第 2 の F c ドメイン単量体と第 3 の F c ドメイン単量体のヒンジ部分は、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 2 2 1) を有し；各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは、独立して、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、2 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 2 ドメインは同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS

VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号 223)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、10 個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、8 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、6 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含み、各 F c ドメイン単量体の C H 3 ドメインは独立して、5 つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号 224)

を含み、単一アミノ酸置換は、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択され；F c ドメイン単量体の各々は独立して、最大 10 個の単一アミノ酸置換を有する配列番号 4 2、4 3、4 5、および 4 7 のいずれかのアミノ酸配列を含み；単一アミノ酸置換のうちの最大 6 つが、C H 3 ドメイン中の逆電荷変異であるか、または改変突起を形成する変異であり；単一アミノ酸置換は、E U ナンバリングの G 3 4 1 位～E U ナンバリングの K 4 4 7 位（両端を含む）配列内にあり；V H ドメインまたは s c F v は、表 1 に記載される C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 のセットを含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の配列を含む V H ドメインの C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 を含み、かつ V H 配列は、C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列に対して少なくとも 95 % または 98 % 同一であり；V H ドメインまた

は s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列を含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 1 に記載される C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 の配列のセットを含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列と V L 配列のセットからの C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 の配列を含み；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列の C D R－H 1、C D R－H 2、および C D R－H 3 を含む V H ドメインと、表 2 に記載される抗体の V L 配列の C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 を含む V L ドメインを含み、ここで V H ドメイン配列と V L ドメイン配列は、C D R－H 1、C D R－H 2、C D R－H 3、C D R－L 1、C D R－L 2、および C D R－L 3 の配列を除き、表 2 に記載される抗体の V H 配列と V L 配列に対して少なくとも 9 5 % または 9 8 % 同一であり；V H ドメインまたは s c F v は、表 2 に記載される抗体の V H 配列と V L 配列のセットを含む。

【手続補正 1 0】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 5 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 5 6】

様々な実施形態では、
GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 23), GGGGS (配列番号 1),
GGSG (配列番号 2), SGGG (配列番号 3), GSGS (配列番号 4), GSGSGS (配列番号 5), GSGSGSGS (配列番号 6), GSGSGSGSGS (配列番号 7), GSGSGSGSGSGS (配列番号 8), GSGSGS (配列番号 9),
GSGSGSGGS (配列番号 10), GSGSGSGSGSGS (配列番号 11), GGSG (配列番号 2), GGSG (配列番号 2), GSGGGSGG (配列番号 12), GSGGGSGGGSGGGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 213),
GENLYFQSGG (配列番号 28), SACYCELS (配列番号 29), RSIAT (配列番号 30),
RPACKIPNDLKQKVMNH (配列番号 31), GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (配列番号 32), AAANSSIDLISVPVDSR (配列番号 33),
GSGGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS (配列番号 34), GGGSGGGSGGGGS (配列番号 35), SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG (配列番号 18), GSGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 36),
GGGG (配列番号 19), GGGGGGGG (配列番号 20), GGGGGGGGGGGG (配列番号 21), および
GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (配列番号 22)

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり；少なくとも 1 つの F c ドメイン単量体は、E U の I 2 5 3 位に置換を含み；E U の I 2 5 3 位の各アミノ酸置換は、独立して、I 2 5 3 A、I 2 5 3 C、I 2 5 3 D、I 2 5 3 E、I 2 5 3 F、I 2 5 3 G、I 2 5 3 H、I 2 5 3 I、I 2 5 3 K、I 2 5 3 L、I 2 5 3 M、I 2 5 3 N、I 2 5 3 P、I 2 5 3 Q、I 2 5 3 R、I 2 5 3 S、I 2 5 3 T、I 2 5 3 V、I 2 5 3 W、および I 2 5 3 Y からなる群から選択され；少なくとも 1 つの F c ドメイン単量体は、E U の R 2 9 2 位に置換を含み；E U の R 2 9 2 位の各アミノ酸変異は、独立して、R 2 9 2 D、R 2 9 2 E、R 2 9 2 L、R 2 9 2 P、R 2 9 2 Q、R 2 9 2 R、R 2 9 2 T、および R 2 9 2 Y からなる群から選択され；少なくとも 1 つの F c ドメイン単量体は、T 3 6 6 Y、T 3 6 6 W、T 3 9 4 W、T 3 9 4 Y、F 4 0 5 W、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、S 3 5 4 C、Y 3 4 9 T、T 3 9 4 F、K 4 0 9 D、K 4 0 9 E、K 3 9 2 D、K 3 9 2 E、K 3 7 0 D、K 3 7 0 E、D 3 9 9 K、D 3 9 9 R、E 3 5 7 K、E 3 5 7 R、D 3 5 6 K、および D 3 5 6 R からなる群から選択される置換を含み、各 F c ドメイン単量体のヒンジは独立して、E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 2 2 0) および D K T H T C P P C P A P E L L (配列番号 2 2 1) からなる群から選択され

るアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる。

【手続補正 11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0158

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0158】

定義：

本明細書に記載される場合、「Fcドメイン単量体」という用語は、少なくともヒンジドメイン、ならびに第2および第3の抗体定常ドメイン(C_H2およびC_H3)、またはそれらの機能性断片(例えば、少なくともヒンジドメインまたはその機能性断片、CH2ドメインまたはその機能性断片、およびCH3ドメインまたはその機能性断片)(例えば、(i)別のFcドメイン単量体と二量体形成してFcドメインを形成し、そして(ii)Fc受容体に結合することができる断片)を含むポリペプチド鎖を指す。好ましいFcドメイン単量体は、アミノ末端からカルボキシ末端へ、IgG1ヒンジ、IgG1 CH2ドメインおよびIgG1 CH3ドメインの少なくとも一部分を含む。したがって、Fcドメイン単量体、例えば、ヒトIgG1 Fcドメイン単量体は、E316～G446もしくはK447、P317～G446もしくはK447、K318～G446もしくはK447、K318～G446もしくはK447、S319～G446もしくはK447、C320～G446もしくはK447、D321～G446もしくはK447、K322～G446もしくはK447、T323～G446もしくはK447、K323～G446もしくはK447、H324～G446もしくはK447、T325～G446もしくはK447、またはC326～G446もしくはK447にわたることができる。Fcドメイン単量体は、IgG、IgE、IgM、IgAまたはIgDを含む、任意の免疫グロブリン抗体アイソタイプとすることが可能である(例えば、IgG)。さらに、Fcドメイン単量体は、IgGサブタイプ(例えば、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、またはIgG4)であり得る(例えば、ヒトIgG1)。ヒトIgG1 Fcドメイン単量体が、本明細書に記載される実施例において使用される。ヒトIgG1の完全ヒンジドメインは、EUナンバリングE316～P230またはL235にわたり、CH2ドメインは、A231またはG236～K340にわたり、CH3ドメインは、G341～K447にわたる。ヒンジドメインの最後のアミノ酸の位置については異なる見解がある。それは、P230またはL235のいずれかである。本明細書の多くの実施例において、CH3ドメインはK347を含まない。ゆえにCH3ドメインは、G341～G446であってもよい。本明細書の多くの実施例において、ヒンジドメインは、E216～L235を含み得る。これは、例えば、ヒンジがCH1ドメインまたはCD38結合ドメインに対してカルボキシ末端であるときに当てはまる。例えばヒンジがポリペプチドのアミノ末端であるときなどのいくつかの例では、EUナンバリング221のAspは、Glnに変異される。Fcドメイン単量体は、抗原認識領域、例えば可変領域または相補性決定領域(CDR)として機能することが可能である、免疫グロブリンの部分は何も含まない。Fcドメイン単量体は、野生型(例えば、ヒト)Fcドメイン単量体配列からの変更を10程度(例えば、1～10、1～8、1～6、1～4のアミノ酸置換、付加、または欠失)含有することが可能であり、該変更は、FcドメインとFc受容体との間の相互作用を変える。Fcドメイン単量体は、野生型Fcドメイン単量体配列(例えば、1～10、1～8、1～6、1～4のアミノ酸置換、付加または欠失)からの変更(例えば、単一アミノ酸置換)を10程度含有することが可能であり、当該変更は、Fcドメイン単量体間の相互作用を変える。特定の実施形態では、以下のヒトIgG1 CH3ドメイン配列と比較して、CH3ドメイン上に、最大10、8、6または5つの単一アミノ酸置換が存在する：

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV

MHEALHNHYTQKSLSLSPG (配列番号224)

。好適な変更の例は、この技術分野で既知である。

【手続補正 1 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 8 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 8 1】

本明細書で使用される場合、「グリシンスペーサー」という用語は、2つのFcドメイン単量体を直列に連結する、グリシンのみを含有するリンカーを指す。グリシンスペーサーは、少なくとも4（配列番号19）、8（配列番号20）、または12個（配列番号21）のグリシン（例えば、4～30（配列番号214）、8～30（配列番号215）、または12～30個（配列番号216）のグリシン、例えば、12～30個（配列番号216）、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30個のグリシン（配列番号214））を含有し得る。いくつかの実施形態では、グリシンスペーサーは、GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG（配列番号27）の配列を有する。

【手続補正 1 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 2 1 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 1 4】

いくつかの実施形態では、本開示のCD38結合ドメインは、表1に列挙される標的または抗原に対して、以下の表1にさらに詳細に提示されるように、列挙される標的または抗原に関して表1に列挙されるCDR配列のうちの1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つすべてを含む。

（表1）CDR配列

抗体名	CDR1-IMGT (重鎖)	CDR2-IMGT (重鎖)	CDR3-IMGT (重鎖)	CDR1-IMGT (軽鎖)	CDR2-IMGT (軽鎖)	CDR3-IMGT (軽鎖)
抗CD38	GFTFNSF A (配列番号 85)	ISGSGGG T (配列番号 115)	AKDKILWF GEPVFDY (配列番号 148)	QSVSSY (配列番号 180)	DAS	QQRSNW PPT (配列番号 211)
イサツキシマブ	GYTFTDY W (配列番号 86)	IYPGDGD T (配列番号 109)	ARGDYYG SNSLDY (配列番号 149)	QDVSTV (配列番号 181)	SAS	QQHYSPP YT (配列番号 212)
MOR202 (Kabat 番号付け)	SYVMN (配列番号 225)	GISGDPS NTYYADS VKG (配列番号226)	DLPLVYT GFAY (配列番号227)	SGDNLRH YYVY (配列番号228)	GDSKRPS (配列番号229)	QTYTGGA S (配列番号 230)

【手続補正 1 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 2 1 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 1 5】

（表2）VHおよびVL配列

抗体名	VH	VL
イサツキシマブ	(VH + CH1) QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCK ASGYTFTDYWMQWVKRPGQGL EWIGTIYPGDGDTGYAQKFQGKAT LTADKSSKTVYMHLSLASEDSAV YYCARGDYYGSNSLDYWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYN 300 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (配列番号231)	DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCK ASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRRL IYSASYRYIGVPDRFTGSGAGTDF TFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSP YTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C (配列番号233)
MOR202	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSSYYMNWVRQAPGKLEWVSGISG DPSNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFA YWGQGTLLTV (配列番号232)	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNL RHYVYVWYQQKPGQAPVLIYGD SKRP SGIPERFSGNSGNTATLTISGTQAEDE ADYYCQTYTGASLVFGGGTKLTVLGQ (配列番号234)

【手続補正 15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0266

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0266】

いくつかの実施形態では、2つのFcドメイン単量体間のスペーサーは、グリシン残基のみを含有し、例えば、少なくとも4つのグリシン残基（例えば、4～200（配列番号235）、4～180（配列番号236）、4～160（配列番号237）、4～140（配列番号238）、4～40（配列番号239）、4～100（配列番号240）、4～90（配列番号241）、4～80（配列番号242）、4～70（配列番号243）、4～60（配列番号244）、4～50（配列番号245）、4～40（配列番号239）、4～30（配列番号214）、4～20（配列番号217）、4～19（配列番号246）、4～18（配列番号247）、4～17（配列番号248）、4～16（配列番号249）、4～15（配列番号250）、4～14（配列番号251）、4～13（配列番号252）、4～12（配列番号253）、4～11（配列番号254）、4～10（配列番号255）、4～9（配列番号256）、4～8（配列番号257）、4～7（配列番号258）、4～6（配列番号259）または4～5（配列番号260）のグリシン残基）（例えば、4～200（配列番号235）、6～200（配列番号261）、8～200（配列番号262）、10～200（配列番号263）、12～200（配列番号264）、14～200（配列番号265）、16～200（配列番号266）、18～200（配列番号267）、20～200（配列番号268）、30～200（配列番号269）、40～200（配列番号270）、50～200（配列番号271）、60～200（配列番号272）、70～200（配列番号273）、80～200（配列番号274）、90～200（配列番号275）、100～200（配列番号276）、120～200（配列番号277）、140～200（配列番号278）、160～200（配列番号279）、180～200（配列番号280）、または190～200（配列番号281）

のグリシン残基)を含有する。或る実施形態では、スペーサーは、4～30のグリシン残基(配列番号214)(例えば、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30のグリシン残基(配列番号214))を有する。いくつかの実施形態では、グリシン残基のみを含有するスペーサーは、グリコシル化(例えば、O-結合型グリコシル化、O-グリコシル化とも称する)されていないものであり得るか、または、例えば1つ以上のセリン残基を含有するスペーサー(例えば、SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG(配列番号18))と比較して、低減されたレベルのグリコシル化(例えば、低減されたレベルのO-グリコシル化)(例えば、キシロース、マンノース、シアル酸、フコース(Fuc)および/またはガラクトース(Gal)等のグリカン(例えば、キシロース)による低減したレベルのO-グリコシル化)を有し得る。

【手続補正16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0289

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0289】

いくつかの事例では、Fc抗原結合ドメイン構築体は、1つ以上の精製用ペプチドに連結して、例えば全細胞溶解混合物からの、Fc抗原結合ドメイン構築体の精製および単離を促進することが可能である。いくつかの実施形態では、精製用ペプチドは、精製用ペプチドに対して特異的な親和性を有する別の部分と結合する。いくつかの実施形態では、精製用ペプチドと特異的に結合するこうした部分は、基剤、樹脂またはアガロースビーズ等の固相支持体に付加する。Fc抗原結合ドメイン構築体に結合され得る精製用ペプチドの例としては、ヘキサヒスチジンペプチド(配列番号38)、FLAGペプチド、mycペプチドおよび赤血球凝集素(HA)ペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。ヘキサヒスチジンペプチド(配列番号38)(HHHHHH(配列番号38))は、マイクロモル親和性をもつニッケル官能性アガロースアフィニティーカラムと結合する。いくつかの実施形態では、FLAGペプチドは、配列DYKDDDDK(配列番号39)を含む。いくつかの実施形態では、FLAGペプチドは、直列にした、整数倍にした配列DYKDDDDK(配列番号39)、例えば3×DYKDDDDK(配列番号282)を含む。いくつかの実施形態では、mycペプチドは、配列EQKLISEEDL(配列番号40)を含む。いくつかの実施形態では、mycペプチドは、直列にした、整数倍にした配列EQKLISEEDL(配列番号40)、例えば3×EQKLISEEDL(配列番号283)を含む。いくつかの実施形態では、HAペプチドは、配列YPYDVPDYA(配列番号41)を含む。いくつかの実施形態では、HAペプチドは、直列にした、整数倍にした配列YPYDVPDYA(配列番号41)、例えば3×YPYDVPDYA(配列番号284)を含む。FLAG、mycまたはHAの精製用ペプチドに対して特異的に認識かつ結合する抗体は、この技術分野で周知であり、しばしば市販されている。これらの抗体により機能化された固相支持体(例えば、基剤、樹脂またはアガロースビーズ)を用いて、FLAG、mycまたはHAペプチドを含むFc抗原結合ドメイン構築体を精製することができる。

【手続補正17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0313

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0313】

(表5)構築体7(CD38)配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)	短鎖Fc
構築体 7 (CD38)	配列番号 285 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFLTLSLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 286 QLLESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFDDYGMSWV RQAPGKGLEWVSDISWN GGKTHYVDSVKGQFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGSLFHDSSGFY FGHWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPP VLKSDGSFFLYSDLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGG GGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGDKHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPCRDKLTKNQV SLWCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	配列番号 48 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKN QVSLSCAVDGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG

【手続補正 18】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0315

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0315】

実施例 2. CD38 結合ドメインを含む

Fc 抗原結合ドメイン構築体 13 の設計および精製 タンパク質発現

分岐点がC末端Fcドメインにある、単独分岐したFcドメインから形成された構築体を、以下に記載されるように作製する。Fc抗原結合ドメイン構築体13(CD38)は、各々、2つの別個のFcドメイン単量体含有ポリペプチド(2コピーの抗CD38長鎖Fc(配列番号ZZのうちのいずれか1つ)および2コピーの短鎖Fc(配列番号ZZ))と、2コピーの抗CD38軽鎖ポリペプチド(配列番号ZZ)とを含む。長鎖Fcは、電荷変異(K409D/D399K変異)Fcドメイン単量体(ホモ二量体形成を促進する)を、E357K電荷変異ならびにS354CおよびT366W突起形成変異(ヘテロ二量体形成を促進する)を有するFcドメイン単量体と、抗CD38 VHおよびCH1ドメイン(EUの1~220位)と直列に連続してN末端で含有する(構築体13(CD38))。短鎖Fcは、K370D電荷変異、ならびにY349C、T366S、L368A、およびY407V空洞形成変異(ヘテロ二量体形成を促進するため)を含有する。抗CD38軽鎖ならびに抗CD38 VHおよびCH1は、抗CD38モノクローナル抗体から取られる。この軽鎖ならびに抗CD38 VHおよびCH1を含む構築体を、略語CD38によって示す。関連する構築体を、カニクイザルにより発現されたCD38と交差反応する完全ヒトモノクローナル抗体から取られた抗CD38軽鎖ならびに抗CD38 VHおよびCH1を使用して生成することができる。これらの構築体を、略語Cynoによって示す。CD38軽鎖はまた、scFvの一部として長鎖FcのN末端に融合されて発現され得る。構築体13の他の型が抗CD38重鎖とともに作製され得、各型は、長鎖Fcポリペプチド中のFcドメイン単量体間に異なる大きさのグリシンスペーサー(G4(配列番号19)、G10(配列番号25)、G15(配列番号26)、またはG20(配列番号23)リンカー)を保有する。DNA配列は、哺乳動物細胞での発現に最適化され、pcDNA3.4哺乳動物発現ベクター内にクローニングされた。DNAプラスミド構築体はリポソームを介して、ヒト胎生腎(HEK)293細胞にトランスフェクトされる。以下の構築体の各々に対するアミノ酸配列は、3つの別個のプラスミド(1つのプラスミドは軽鎖(抗CD38)をコードし、1つのプラスミドは長鎖Fc(抗CD38)をコードし、1つのプラスミドは短鎖Fcをコードする)によりコードされる。

【手続補正19】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0316

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0316】

(表6)構築体13(CD38)配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1)	短鎖Fc
構築体 13 (CD38), G ₂₀ (配列番号 23) リンカー S3Y-CD38	配列番号 285 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRRATGIPARF SGSGSGTDFTLTSSLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSTLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 288 EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWWSAISGSGGTY YADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEPVFDYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTPSSSLGTQTY ICNVNHNKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDKLTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLSKDSGFFLYSDL TVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG	配列番号 48 DKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSIVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKN QVSLSCAVDGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
構築体 13 (CD38), G ₂₀ (配列番号 23) リンカー S3Y-Cyno-001	配列番号 287 QSVLTQPPSASGTPGQQRV TISCSGSSNIGDNYVSWY QQLPGTAPKLLIYRDSQRP SGVPDRFSGSKGTSASLA ISGLRSEDEADYYCQSYDS SLSGSVFGGGTKLTVLGQ PKANPTVTFLPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADGSPVKAGVETTK PSKQSNKYAASSYLSLTP EQWKSRSYSQCQVTHEG STVEKTVAPTECS	配列番号 289 QLLESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFDDYGMSSWV RQAPGKGLEWVSDISWN GGKTHYVDSVKGQFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGSLFHDSSGFY FGHWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTPSSSLGT QTYICNVNHNKPSNTKVDK	配列番号 48 DKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSC AVDGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGN

		RVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPCRDKLTK NQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKG GGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NAKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPV LKSDGGSFFLYSDLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	VFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

【手続補正 2 0】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 5 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 5 2】

(表 7) 構築体 4 (C D 3 8) 配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc	短鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)
構築体 4 S3L (CD38)	配列番号 285 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 290 DKHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPCRDKLTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGDKHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPP CRDKLTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGD KHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPCRDKLTKNQV SLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG	配列番号 291 EVQLLESQGGGLVQPGGS LRLSCAVSGFTFNSFAMS WVRQAPGKGLEWVSAIS GSGGGTTYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYFCADKILWFGE PVFDYWGQGTSLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVPEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKNQVSLSCA VDGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG

【手続補正 2 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 5 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 5 5】

(表 8) 構築体 8 (CD 3 8) 配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc	短鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)
構築体8 (CD38)	配列番号 285 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRTGIPARF SGSGSGTDFLTITSSLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 292 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLKSD GSFFLYSDLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGKGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVY LPPCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG	配列番号 291 EVQLLESQGGGLVQPGGS LRLSCAVSGFTFNSFAMS WVRQAPGKGLEWVSAIS GSGGGTYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYFCAKDILWFGE PVFDYWGQGTLLTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVPEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSRDELTKNQVSL SCLVDFGYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGGS FFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG

【手続補正 2 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 5 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 5 8】

(表 9) 構築体 9 (C D 3 8) 配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)	短鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)
構築体 9 S3A (CD38)	配列番号 285 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISSEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 293 EVQLLES GGGLVQP GGS L RLSCAVSGFTFNSFAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGS GGGTYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYFCAKDILWFGPEPVF DYWGQGT LTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVT VSWN SGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTV PSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPV LKSDGSFFLYSDLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGG GGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDKLTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG	配列番号 291 EVQLLES GGGLVQP GGS LRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGGTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGPEPVFDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVT SWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTV PSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAIEKTISKAK GQPREPQVCTLPSPRDELTK NQVSLSCAVDGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

【手続補正 2 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 6 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 6 0】

(表 1 0) 構築体 1 0 (C D 3 8) 配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1)	短鎖Fc
構築体 10 (CD38)	配列番号 285 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRRATGIPARF SSGSGGTDFTLTISSELEPFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNREGC	配列番号 71 EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGGTY YADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGPEVFDYWGQGTLLT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVEPK	配列番号 63 DKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVHLQ DWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSC AVDGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGS

		SCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLKSD GSFFLYSDLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGDKT HTCPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTL PCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGKGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPCR DKLTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGSGFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP G	FFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

【手続補正 2 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 6 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 6 3】

(表 1 1) 構築体 1 6 (C D 3 8) 配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)	短鎖Fc
構築体 16 S5Y (CD38)	配列番号 285 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISSEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK	配列番号 73 EVQLLESQGGLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGGTY YADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK	配列番号 63 DKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPRE

VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVCLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	ILWFGPEVFDYWGGQTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVT SWNSGALTSGVHTFPAVLQ SGLYLSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRV SCDKHTCPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDKLTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGKGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGDK THTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDKLTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGDK THTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVKSDGDSFFLYSDLT VTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPV KSDGDSFFLYSDLT	EQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSC AVDGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPVLDSGDS FFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

【手続補正 2 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 6 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 6 6】

(表 1 2) 構築体 1 9 (C D 3 8) 配列

構築体	軽鎖	長鎖Fc (抗CD38 VHおよびCH1を含む)	短鎖Fc
構築体 19 S5X (CD38)	配列番号 285 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYDASNRAIGIPARF SGSGSGTDFTLTISLEPEDFA VYYCQQRSNWPPTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	配列番号 294 EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFTFNSFAMSWVRQ APGKGLEWWSAISGSGGGTY YADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEPVFDYWGGTGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTY ICNVNHHKPSNTKVDKRVPEK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDKLT NQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHED DPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLSKSDGSFFLYSDL TVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK GGGGGGGGGGGGGGGGGG GGDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPCRDKLT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	配列番号 63 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKN QVSLSCAVDGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG

【手続補正 2 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 3 7 1

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 3 7 1 】

(表 1 3) D a u d i 細胞および R a j i 細胞における C D 3 8 構築体の C D C 活性

治療	Daudi 細胞			Raji 細胞	
	最大溶解%	EC50 nM	EC50、抗CD38 mAb に対する倍率変化	最大溶解%	最大溶解%、抗CD38 mAb に対する倍率変化
抗CD38 mAb	100	0.7749	1.00	14.7	1.00
構築体13 S3Y-AA-CD38	100	0.0725	10.685	92.1	6.28
構築体7 S3I-AA-CD38	100	0.1960	3.954	15.5	1.06
構築体9 S3A-AA-CD38	100	0.0372	20.831	39.9	2.72
構築体19 S5X-AA-CD38	100	0.0993	7.801	83.3	5.67

¹ 別段の記載がない限り、すべての構築体は G 2 0 (配列番号 2 3) リンカーを含んだ。

【手続補正 2 7】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 3 7 5

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 3 7 5 】

(表 1 5) A D C P アッセイにおける抗 C D 3 8 F c 構築体の効力

構築体 番号 ¹	n	EC50 (nM)		
		範囲	平均	SD
抗CD38 mAb	2	0.14-0.08	0.11	0.045
S3Y-AA-CD38 構築体 13	2	0.1-0.03	0.069	0.05
S3A-AA-CD38 構築体 9	2	0.034-0.028	0.031	0.004
S5X-AA-CD38 構築体 19	2	0.02-0.04	0.03	0.011

¹ 別段の記載がない限り、すべての構築体はG20(配列番号23)リンカーを含んだ。

【手続補正28】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0377

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0377】

(表15) ADC Cアッセイにおける抗CD38Fc構築体の効力

構築体 番号 ¹	n	EC50 (nM)		
		範囲	平均	SD
抗CD38 mAb	2	0.013-0.003	0.01567	0.007541
S3Y-AA-CD38 構築体 13 G ₂₀ (配列番号 23) リンカー	2	0.0019- 0.0006	0.0012	0.0009

【手続補正29】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0397

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0397】

実施例41：抗原結合は、抗CD38構築体において保存される

抗原結合を、SPRを使用して評価した。組み換え型、ヒスチジンタグ付きのCD38(9049-B7 R&D Systems)タンパク質を、以前に固定化した抗6XHIS(配列番号38)抗体を使用してセンサ上で捕捉した。同族抗体およびSIFボディアの希釈系列をセンサに通過させ、これを分析物注入の合間に低pHグリシン溶液で再生させた。結合を、1:1ラングミュア相互作用モデルを使用して計算した。

【手続補正30】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0200

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0200】

本明細書で使用される場合、断片という用語、および部分という用語は、相互交換可能に使用され得る。

[本発明1001]

C D38結合ドメインと、リンカーによって第2のFcドメインに結合された第1のFcドメインとを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

前記第1および第2のFcドメインの各々が、ヘテロ二量体化選択性モジュールまたはホモ二量体化選択性モジュールのいずれかを含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1002]

C D38結合ドメインと、リンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む第1のIgG1 Fcドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む第2のIgG1 Fcドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む任意選択の第3のIgG1 Fcドメイン単量体と
を含む、ポリペプチドであって、

少なくとも2つのFcドメイン単量体が、ヘテロ二量体化選択性モジュールまたはホモ二量体化選択性モジュールのいずれかを含む、ポリペプチド。

[本発明1003]

前記C D38結合ドメインが、抗体重鎖可変ドメインを含む、本発明1002のポリペプチド
。

[本発明1004]

前記C D38結合ドメインが、抗体軽鎖可変ドメインを含む、本発明1002のポリペプチド
。

[本発明1005]

前記第1のIgG1 Fcドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含み、前記第2のIgG1 Fcドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、本発明1002のポリペプチド。

[本発明1006]

前記第1のIgG1 Fcドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含み、前記第2のIgG1 Fcドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、本発明1002のポリペプチド。

[本発明1007]

前記第1のIgG1 Fcドメイン単量体および前記第2のIgG定常ドメイン単量体の両方が、改変された突起を形成する変異を含む、本発明1002のポリペプチド。

[本発明1008]

第3のリンカーと、第3のIgG1 Fcドメイン単量体と、を含み、

前記第1のIgG1 Fcドメイン単量体、前記第2のIgG1 Fcドメイン単量体、および前記第3のIgG1 Fcドメイン単量体が各々、改変された突起を形成する変異を含む、

本発明1002のポリペプチド。

[本発明1009]

第3のリンカーと、第3のIgG1 Fcドメイン単量体と、を含み、

前記第1のIgG1 Fcドメイン単量体および前記第2のIgG1 Fcドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第3のIgG1 Fcドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、

本発明1002のポリペプチド。

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体
の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第2の I g G1 ドメイン単量体
が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、
 本発明1002のポリペプチド。

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体
の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第1の I g G1 ドメイン単量体
が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、
 本発明1002のポリペプチド。

前記改変された突起を形成する変異および前記逆電荷変異が、C H3ドメイン内にある、本発明1002~1012のいずれかのポリペプチド。

前記変異が、E UのG341位～E UのK447位（両端を含む）の配列内にある、本発明1013のポリペプチド。

前記変異が、単一アミノ酸変化である、本発明1002～1013のいずれかのポリペプチド。

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、
GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GCGS, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,
GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGS, GSGS,
GSGGGGSG, GSGGGSGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS,
RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,
AAANSSIDLISVPVDSR, GSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS,
GGGSGGGSGGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG,
GGGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGG
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、本発明1002のポリペプチド。

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、グリシンスペーサーである、本発明1002のポリペプチド。

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが独立して、4〜30、4〜20、8〜30、8〜20、12〜20、または12〜30個のグリシン残基からなる、本発明1002のポリペプチド。

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、20個のグリシン残基からなる、本発明1002のポリペプチド。

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、E U の I 253 位に単一アミノ酸変異を含む、本発明 1002~1019 のいずれかのポリペプチド。

E U の I 253 位の各アミノ酸変異が独立して、I 253 A、I 253 C、I 253 D、I 253 E、

I 253 F、I 253 G、I 253 H、I 253 I、I 253 K、I 253 L、I 253 M、I 253 N、I 253 P、I 253 Q、I 253 R、I 253 S、I 253 T、I 253 V、I 253 W、および I 253 Y からなる群から選択される、本発明1020のポリペプチド。

[本発明1022]

I 253位の各アミノ酸変異が、I 253 Aである、本発明1021のポリペプチド。

[本発明1023]

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、E U の R 292 位に単一アミノ酸変異を含む、本発明1002～1022のいずれかのポリペプチド。

[本発明1024]

E U の R 292 位の各アミノ酸変異が独立して、R 292 D、R 292 E、R 292 L、R 292 P、R 292 Q、R 292 R、R 292 T、および R 292 Y からなる群から選択される、本発明1023のポリペプチド。

[本発明1025]

R 292位の各アミノ酸変異が、R 292 Pである、本発明1024のポリペプチド。

[本発明1026]

各 F c ドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L および D K T H T C P P C P A P E L L からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、本発明1002～1025のいずれかのポリペプチド。

[本発明1027]

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L を有する、本発明1026のポリペプチド。

[本発明1028]

前記第1の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L を有する、本発明1026のポリペプチド。

[本発明1029]

前記第1の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 E P K S C D K T H T C P P C P A P E L を有し、前記第2の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列 D K T H T C P P C P A P E L L を有する、本発明1026のポリペプチド。

[本発明1030]

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1031]

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1032]

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、2つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1033]

各 F c ドメイン単量体の前記 C H 2 ドメインが同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1034]

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、10個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1035]

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、8つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1036]

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、6つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1037]

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、5つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1038]

前記単一アミノ酸置換が、T366Y、T366W、T394W、T394Y、F405W、F405A、Y407A、S354C、Y349T、T394F、K409D、K409E、K392D、K392E、K370D、K370E、D399K、D399R、E357K、E357R、D356K、およびD356Rからなる群から選択される、本発明1030～1037のいずれかのポリペプチド。

[本発明1039]

前記Fcドメイン単量体が各々独立して、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1002～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1040]

前記単一アミノ酸置換のうちの最大6つが、前記CH3ドメイン内の逆電荷変異であるか、または改変された突起を形成する変異である、本発明1039のポリペプチド。

[本発明1041]

前記単一アミノ酸置換が、EUのG341位～EUのK447位（両端を含む）の配列内にある、本発明1039のポリペプチド。

[本発明1042]

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも1つが、T366Y、T366W、T394W、T394Y、F405W、S354C、Y349T、およびT394Fからなる群から選択される、本発明1002のポリペプチド。

[本発明1043]

前記2つまたは4つの逆電荷変異が、K409D、K409E、K392D、K392E、K370D、K370E、D399K、D399R、E357K、E357R、D356K、およびD356Rから選択される、本発明1005、1006、および1009～1029のいずれかのポリペプチド。

[本発明1044]

前記C D38結合ドメインが、s c F vである、本発明1002～1043のいずれかのポリペプチド。

[本発明1045]

前記C D38結合ドメインが、V HドメインおよびC H1ドメインを含む、本発明1002～1043のいずれかのポリペプチド。

[本発明1046]

前記C D38結合ドメインが、V Lドメインをさらに含む、本発明1043のポリペプチド。

[本発明1047]

前記V Hドメインが、表1に記載のC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3配列のセットを含む、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1048]

前記V Hドメインが、表2に記載の抗体の配列を含むV HドメインのC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3を含む、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1049]

前記V Hドメインが、表2に記載の抗体のV H配列のC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3を含み、前記V H配列が、前記C D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3配列を除き、表2に記載の抗体のV H配列と少なくとも95%または98%同一である、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1050]

前記V Hドメインが、表2に記載の抗体のV H配列を含む、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1051]

前記C D38結合ドメインが、表1に記載されるC D R－H1、C D R－H2、C D R－H3、C D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3の配列のセットを含む、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1052]

前記C D38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV H配列およびV L配列のセットからのC D R－H1、C D R－H2、C D R－H3、C D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3の配列を含む、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1053]

前記C D38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV H配列のC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3を含むV Hドメイン、ならびに表2に記載される抗体のV L配列のC D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3を含むV Lドメインを含み、前記V Hドメイン配列およびV Lドメイン配列が、C D R－H1、C D R－H2、C D R－H3、C D R－L1、C D R－L2およびC D R－L3の配列を除き、表2に記載される抗体のV H配列およびV L配列に対して少なくとも95%または98%同一である、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1054]

前記C D38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV H配列およびV L配列のセットを含む、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1055]

前記C D38結合ドメインが、I g G C L抗体定常ドメインおよびI g G C H1抗体定常ドメインを含む、本発明1002～1043のいずれかのポリペプチド。

[本発明1056]

前記C D38結合ドメインが、V HドメインおよびC H1ドメインを含み、V LドメインおよびC Lドメインを含むポリペプチドに結合してF a bを形成することができる、本発明1002～1043のいずれかのポリペプチド。

[本発明1057]

前記第1または第2のI g G1 F cドメイン単量体の前記ヒンジ内のシステイン残基間

のジスルフィド結合によって結合される本発明1002～1056のいずれかのポリペプチドの2つのコピーを含む、ポリペプチド複合体。

[本発明1058]

ヒンジドメイン、CH₂ドメイン、およびCH₃ドメインを含むIgG1Fcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドに結合される、本発明1002～1056のいずれかのポリペプチドを含む、ポリペプチド複合体であって、

前記ポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドが、前記ポリペプチドの前記第1、第2、または第3のIgG1Fcドメイン単量体の前記ヒンジドメイン内および前記第2のポリペプチドの前記ヒンジドメイン内のシステイン残基間のジスルフィド結合により結合される、

ポリペプチド複合体。

[本発明1059]

前記第2のポリペプチド単量体が、改変された空洞を形成する変異を含む、本発明1058のポリペプチド複合体。

[本発明1060]

前記改変された空洞を形成する前記変異が、Y407T、Y407A、F405A、T394S、T394W／Y407A、T366W／T394S、T366S／L368A／Y407V／Y349C、S364H／F405Aからなる群から選択される、本発明1059のポリペプチド複合体。

[本発明1061]

前記第2のポリペプチドが、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1058～1060のいずれかのポリペプチド複合体。

[本発明1062]

CD38結合ドメインと、リンカーと、ヒンジドメイン、CH₂ドメイン、およびCH₃ドメインを含む第1のIgG1Fcドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、CH₂ドメイン、およびCH₃ドメインを含む第2のIgG1Fcドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、CH₂ドメイン、およびCH₃ドメインを含む任意選択の第3のIgG1Fcドメイン単量体と

を含む、ポリペプチドであって、

少なくとも1つのFcドメイン単量体が、1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、ポリペプチド。

[本発明1063]

前記CD38結合ドメインが、抗体重鎖可変ドメインを含む、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1064]

前記CD38結合ドメインが、抗体軽鎖可変ドメインを含む、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1065]

前記第1のIgG1Fcドメイン単量体が、表4A中のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4B中のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み、前記第2のIgG1Fcドメイン単量体が、表4Aおよび表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1066]

前記第1のIgG1Fcドメイン単量体が、表4Aおよび表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第2のIgG1Fcドメイン単量体が、表4Aおよび表4BAおよび表4B中のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4B中のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1067]

前記第1のIgG1Fcドメイン単量体および前記第2のIgG定常ドメイン単量体の

両方が、表4Aおよび表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1068]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体、前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体、および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体が各々、表4Aおよび表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、
本発明1062のポリペプチド。

[本発明1069]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表4Aおよび表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体が、表4A中のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4B中のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、
本発明1062のポリペプチド。

[本発明1070]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表4Aおよび表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第2の I g G1 ドメイン単量体が、表4A中のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4B中のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、
本発明1062のポリペプチド。

[本発明1071]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体の両方が各々、表4Aおよび表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第1の I g G1 ドメイン単量体が、表4A中のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4B中のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、
本発明1062のポリペプチド。

[本発明1072]

表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む前記 I g G1 F c ドメイン単量体が、同一の C H3ドメインを有する、本発明1062～1071のいずれかのポリペプチド。

[本発明1073]

表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異が、C H3ドメインにある、本発明1062～1072のいずれかのポリペプチド。

[本発明1074]

前記変異が、E UのG341位～E UのK447位（両端を含む）の配列内にある、本発明1073のポリペプチド。

[本発明1075]

前記変異が各々、単一アミノ酸変化である、本発明1062～1073のいずれかのポリペプチド。

[本発明1076]

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,
GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGS, GSGS,
GGSGGGSG, GSGSGSGSGSGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS,
RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,
AAANSSIDLISVPVDSR, GSGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS,
GGGSGGGSGGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGGGS, GGGG,
GGGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、本発明1072のポリペプチド。

[本発明1077]

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、グリシンスペーサーである、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1078]

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが独立して、4～30、4～20、8～30、8～20、12～20、または12～30個のグリシン残基からなる、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1079]

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、20個のグリシン残基からなる、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1080]

前記Fcドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、EUのI 253位に単一アミノ酸変異を含む、本発明1062～1079のポリペプチド。

[本発明1081]

EUのI 253位の各アミノ酸変異が独立して、I 253 A、I 253 C、I 253 D、I 253 E、I 253 F、I 253 G、I 253 H、I 253 I、I 253 K、I 253 L、I 253 M、I 253 N、I 253 P、I 253 Q、I 253 R、I 253 S、I 253 T、I 253 V、I 253 W、およびI 253 Yからなる群から選択される、本発明1080のポリペプチド。

[本発明1082]

I 253位の各アミノ酸変異が、I 253 Aである、本発明1081のポリペプチド。

[本発明1083]

前記Fcドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、EUのR 292位に単一アミノ酸変異を含む、本発明1062～1082のいずれかのポリペプチド。

[本発明1084]

EUのR 292位の各アミノ酸変異が独立して、R 292 D、R 292 E、R 292 L、R 292 P、R 292 Q、R 292 R、R 292 T、およびR 292 Yからなる群から選択される、本発明1083のポリペプチド。

[本発明1085]

R 292位の各アミノ酸変異が、R 292 Pである、本発明1084のポリペプチド。

[本発明1086]

各Fcドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L および D K T H T C P P C P A P E L L からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、本発明1062～1085のいずれかのポリペプチド。

[本発明1087]

前記第2のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列D K T H T C P P C P A P E L L を有する、本発明1086のポリペプチド。

[本発明1088]

前記第1のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列E P K S C D K T H T C P P C P A P E L を有する、本発明1086のポリペプチド。

[本発明1089]

前記第1のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列EPKSCDKTHTCPPCPAPELを有し、前記第2のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列DKTHTTCPPCPAPELLを有する、本発明1086のポリペプチド。

[本発明1090]

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1091]

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1092]

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1093]

各Fcドメイン単量体の前記CH2ドメインが同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1094]

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、10個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1095]

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、8つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1096]

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、6つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1097]

各Fcドメイン単量体の前記CH3ドメインが独立して、5つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1098]

前記単一アミノ酸置換が、T 366 Y、T 366 W、T 394 W、T 394 Y、F 405 W、F 405 A、Y 407 A、S 354 C、Y 349 T、T 394 F、K 409 D、K 409 E、K 392 D、K 392 E、K 370 D、K 370 E、D 399 K、D 399 R、E 357 K、E 357 R、D 356 K、およびD 356 Rからなる群から選択される、本発明1090～1097のいずれかのポリペプチド。

[本発明1099]

前記F cドメイン単量体が各々独立して、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1062～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1100]

前記単一アミノ酸置換のうちの最大6つが、前記C H3ドメイン内の逆電荷変異である、本発明1099のポリペプチド。

[本発明1101]

前記単一アミノ酸置換が、E UのG 341位～E UのK 447位（両端を含む）の配列内にある、本発明1099のポリペプチド。

[本発明1102]

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも1つが、T 366 Y、T 366 W、T 394 W、T 394 Y、F 405 W、S 354 C、Y 349 T、およびT 394 Fからなる群から選択される、本発明1062のポリペプチド。

[本発明1103]

前記2つまたは4つの逆電荷変異が、K 409 D、K 409 E、K 392 D、K 392 E、K 370 D、K 370 E、D 399 K、D 399 R、E 357 K、E 357 R、D 356 K、およびD 356 Rから選択される、本発明1065、1066、および1069～1089のいずれかのポリペプチド。

[本発明1104]

前記C D38結合ドメインが、s c F vである、本発明1062～1103のいずれかのポリペプチド。

[本発明1105]

前記C D38結合ドメインが、V HドメインおよびC H1ドメインを含む、本発明1062～1103のいずれかのポリペプチド。

[本発明1106]

前記C D38結合ドメインが、V Lドメインをさらに含む、本発明1103のポリペプチド。

[本発明1107]

前記V Hドメインが、表1に記載のC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3配列のセットを含む、本発明1105のポリペプチド。

[本発明1108]

前記V Hドメインが、表2に記載の抗体の配列を含むV HドメインのC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3を含む、本発明1105のポリペプチド。

[本発明1109]

前記V Hドメインが、表2に記載の抗体のV H配列のC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3を含み、前記V H配列が、前記C D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3配列を除き、表2に記載の抗体のV H配列と少なくとも95%または98%同一である、本発明1105のポリペプチド。

[本発明1110]

前記V Hドメインが、表2に記載の抗体のV H配列を含む、本発明1105のポリペプチド。

[本発明1111]

前記C D38結合ドメインが、表1に記載されるC D R－H1、C D R－H2、C D R－H3、C D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3の配列のセットを含む、本発明1105のポリペプチド。

[本発明1112]

前記C D 38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV H配列およびV L配列のセットからのC D R－H1、C D R－H2、C D R－H3、C D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3の配列を含む、本発明1105のポリペプチド。

[本発明1113]

前記C D 38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV H配列のC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3を含むV Hドメイン、ならびに表2に記載される抗体のV L配列のC D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3を含むV Lドメインを含み、前記V Hドメイン配列およびV Lドメイン配列が、C D R－H1、C D R－H2、C D R－H3、C D R－L1、C D R－L2およびC D R－L3の配列を除き、表2に記載される抗体のV H配列およびV L配列に対して少なくとも95%または98%同一である、本発明1105のポリペプチド。

[本発明1114]

前記C D 38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV H配列およびV L配列のセットを含む、本発明1105のポリペプチド。

[本発明1115]

前記C D 38結合ドメインが、I g G C L抗体定常ドメインおよびI g G C H1抗体定常ドメインを含む、本発明1062～1103のいずれかのポリペプチド。

[本発明1116]

前記C D 38結合ドメインが、V HドメインおよびC H1ドメインを含み、V LドメインおよびC Lドメインを含むポリペプチドに結合してF a bを形成することができる、本発明1062～1103のいずれかのポリペプチド。

[本発明1117]

前記第1または第2のI g G1 F cドメイン単量体の前記ヒンジ内のシステイン残基間のジスルフィド結合によって結合される本発明1002～1056のいずれかのポリペプチドの2つのコピーを含む、ポリペプチド複合体。

[本発明1118]

ヒンジドメイン、C H2ドメイン、およびC H3ドメインを含むI g G1 F cドメイン単量体を含む第2のポリペプチドに結合される本発明1062～1116のいずれかのポリペプチドを含む、ポリペプチド複合体であって、

前記ポリペプチドと前記第2のポリペプチドが、前記ポリペプチドの前記第1、第2、または第3のI g G1 F cドメイン単量体の前記ヒンジドメイン内のシステイン残基と前記第2のポリペプチドの前記ヒンジドメイン内のシステイン残基との間のジスルフィド結合によって結合される、
ポリペプチド複合体。

[本発明1119]

前記第2のポリペプチド単量体が、1、2、または3つの逆電荷変異を含む、本発明1118のポリペプチド複合体。

[本発明1120]

前記第2のポリペプチド単量体が、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷変異を含み、かつ前記ポリペプチド内の前記表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷変異に対して相補的である、本発明1129のポリペプチド複合体。

[本発明1121]

前記第2のポリペプチドが、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1118～1120のいずれかのポリペプチド複合体。

[本発明1122]

ヒンジドメイン、C H2ドメイン、およびC H3ドメインを含む第1のI g G1 F cドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、C H2ドメイン、およびC H3ドメイ

ンを含む第2の I g G1 F c ドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメインを含む任意選択の第3の I g G1 F c ドメイン単量体と

を含む、ポリペプチドであって、

少なくとも1つの F c ドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、ポリペプチド。

[本発明1123]

前記第1の I g G1単量体のアミノ末端に抗体重鎖可変ドメインおよびCH1ドメインをさらに含む、本発明1122のポリペプチド。

[本発明1124]

前記第1の I g G1単量体のアミノ末端に s c F v をさらに含む、本発明1122のポリペプチド。

[本発明1125]

前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含み、前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含む、本発明1122のポリペプチド。

[本発明1126]

前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体が、改変された突起を形成する変異を含み、前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、本発明1122のポリペプチド。

[本発明1127]

前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第2の I g G 定常ドメイン単量体の両方が、改変された突起を形成する変異を含む、本発明1122のポリペプチド。

[本発明1128]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体、前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体、および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体が各々、改変された突起を形成する変異を含む、

本発明1002のポリペプチド。

[本発明1129]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、

本発明1122のポリペプチド。

[本発明1130]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第1の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第2の I g G1ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、

本発明1122のポリペプチド。

[本発明1131]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、

前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体の両方が各々、改変された突起を形成する変異を含み、前記第1の I g G1ドメイン単量体が、2つまたは4つの逆電荷変異を含む、

本発明1122のポリペプチド。

[本発明1132]

改変された突起を形成する変異を含む前記 I g G1 F c ドメイン単量体が、1、2、または3つの逆電荷変異をさらに含む、本発明1122～1131のいずれかのポリペプチド。

[本発明1133]

前記改変された突起を形成する変異および前記逆電荷変異が、前記C H3ドメイン内にある、本発明1122～1131のいずれかのポリペプチド。

[本発明1134]

ヒンジドメイン、C H2ドメイン、およびC H3ドメインを含む第1のI g G1 F cドメイン単量体と、第2のリンカーと、ヒンジドメイン、C H2ドメイン、およびC H3ドメインを含む第2のI g G1 F cドメイン単量体と、任意選択の第3のリンカーと、ヒンジドメイン、C H2ドメイン、およびC H3ドメインを含む任意選択の第3のI g G1 F cドメイン単量体とを含む、ポリペプチドであって、

少なくとも1つのF cドメイン単量体が、1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、ポリペプチド。

[本発明1135]

前記第1のI g G1 F cドメイン単量体のアミノ末端に抗体重鎖可変ドメインおよびC H1ドメインをさらに含む、本発明1134のポリペプチド。

[本発明1136]

前記第1のI g G1 F cドメイン単量体のアミノ末端にs c F vをさらに含む、本発明1134のポリペプチド。

[本発明1137]

前記第1のI g G1 F cドメイン単量体が、表4Aに記載のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Bに記載のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含み、前記第2のI g G1 F cドメイン単量体が、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、本発明1134のポリペプチド。

[本発明1138]

前記第1のI g G1 F cドメイン単量体が、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第2のI g G1 F cドメイン単量体が、表4Aに記載のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4Bに記載のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、本発明1134のポリペプチド。

[本発明1139]

前記第1のI g G1 F cドメイン単量体および前記第2のI g G定常ドメイン単量体の両方が、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、本発明1134のポリペプチド。

[本発明1140]

第3のリンカーと、第3のI g G1 F cドメイン単量体と、を含み、
前記第1のI g G1 F cドメイン単量体、前記第2のI g G1 F cドメイン単量体、および前記第3のI g G1 F cドメイン単量体が各々、表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む、
本発明1134のポリペプチド。

[本発明1141]

第3のリンカーと、第3のI g G1 F cドメイン単量体と、を含み、
前記第1のI g G1 F cドメイン単量体および前記第2のI g G1 F cドメイン単量体の両方が各々、表4Aまたは表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第3のI g G1ドメイン単量体が、表4A中のものから選択される2つの逆電荷変異のセット、または表4B中のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、
本発明1134のポリペプチド。

[本発明1142]

第3のリンカーと、第3のI g G1 F cドメイン単量体と、を含み、
前記第1のI g G1 F cドメイン単量体および前記第3のI g G1 F cドメイン単量体の両方が各々、表4Aまたは表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含み、前記第2のI g G1ドメイン単量体が、表4A中のものから選択される2つの逆電荷

変異のセット、または表4B中のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、
本発明1134のポリペプチド。

[本発明1143]

第3のリンカーと、第3の I g G1 F c ドメイン単量体と、を含み、
前記第2の I g G1 F c ドメイン単量体および前記第3の I g G1 F c ドメイン単量体
の両方が各々、表4Aまたは表4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異
を含み、前記第1の I g G1ドメイン単量体が、表4A中のものから選択される2つの逆電荷
変異のセット、または表4B中のものから選択される4つの逆電荷変異のセットを含む、
本発明1134のポリペプチド。

[本発明1144]

表4Aまたは4Bから選択される1、2、または3つの逆電荷アミノ酸変異を含む前記 I g
G1 F c ドメイン単量体が、同一の C H3ドメインを有する、本発明1134～1143のいずれ
かのポリペプチド。

[本発明1145]

表4Aまたは4Bから選択される1つ、2つ、または3つの逆電荷アミノ酸変異が、 C H3ド
メインにある、本発明1134～1143のいずれかのポリペプチド。

[本発明1146]

前記変異が、 E U の G 341位～ E U の K 447位（両端を含む）の配列内にある、本発明11
22～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1147]

前記変異が各々、単一アミノ酸変化である、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチ
ド。

[本発明1148]

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、
GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSGS, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS,
GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGS, GSGS,
GSGSGGGG, GSGSGGGSGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGG, GENLYFQSGG, SACYCELS,
RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG,
AAANSSIDLISVPVDSR, GSGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGG,
GGGSGGGSGGGG, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGG, GGGG,
GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG および GGGGGGGGGGGGGGGGGGG
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、本発明1122～11
45のいずれかのポリペプチド。

[本発明1149]

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが独立して、4～30、4～20、8
～30、8～20、12～20、または12～30個のグリシン残基からなる、本発明1122～1145のい
ずれかのポリペプチド。

[本発明1150]

前記第2のリンカーおよび前記任意選択の第3のリンカーが、20個のグリシン残基からな
る、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1151]

前記 F c ドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、 E U の I 253位に単一アミノ酸変異
を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1152]

E U の I 253位の各アミノ酸変異が独立して、 I 253 A、 I 253 C、 I 253 D、 I 253 E、
I 253 F、 I 253 G、 I 253 H、 I 253 I、 I 253 K、 I 253 L、 I 253 M、 I 253 N、 I 253 P
、 I 253 Q、 I 253 R、 I 253 S、 I 253 T、 I 253 V、 I 253 W、および I 253 Yからなる群
から選択される、本発明1151のポリペプチド。

[本発明1153]

I 253位の各アミノ酸変異が、I 253 Aである、本発明1152のポリペプチド。

[本発明1154]

前記F cドメイン単量体のうちの少なくとも1つが、E UのR 292位に単一アミノ酸変異を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1155]

E UのR 292位の各アミノ酸変異が独立して、R 292 D、R 292 E、R 292 L、R 292 P、R 292 Q、R 292 R、R 292 T、およびR 292 Yからなる群から選択される、本発明1154のいずれかのポリペプチド。

[本発明1156]

R 292位の各アミノ酸変異が、R 292 Pである、本発明1155のポリペプチド。

[本発明1157]

各F cドメイン単量体の前記ヒンジが独立して、E P K S C D K T H T C P P C P A P E L LおよびD K T H T C P P C P A P E L Lからなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1158]

前記第2のF cドメイン単量体および前記第3のF cドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列D K T H T C P P C P A P E L Lを有する、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1159]

前記第1のF cドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列E P K S C D K T H T C P P C P A P E L Lを有する、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1160]

前記第1のF cドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列E P K S C D K T H T C P P C P A P E L Lを有し、前記第2のF cドメイン単量体および前記第3のF cドメイン単量体の前記ヒンジ部分が、アミノ酸配列D K T H T C P P C P A P E L Lを有する、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1161]

各F cドメイン単量体の前記C H₂ドメインが独立して、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1162]

各F cドメイン単量体の前記C H₂ドメインが同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の欠失または置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1165]

各F cドメイン単量体の前記C H₂ドメインが同一であり、2つ以下の単一アミノ酸の置換を伴う、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1166]

各F cドメイン単量体の前記C H₂ドメインが同一であり、アミノ酸配列

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1167]

各 F c ドメイン単量体の前記 C H3ドメインが独立して、10個以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1168]

各 F c ドメイン単量体の前記 C H3ドメインが独立して、8つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1169]

各 F c ドメイン単量体の前記 C H3ドメインが独立して、6つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1170]

各 F c ドメイン単量体の前記 C H3ドメインが独立して、5つ以下の単一アミノ酸置換を伴う、アミノ酸配列

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1171]

前記単一アミノ酸置換が、T 366 Y、T 366 W、T 394 W、T 394 Y、F 405 W、F 405 A、Y 407 A、S 354 C、Y 349 T、T 394 F、K 409 D、K 409 E、K 392 D、K 392 E、K 370 D、K 370 E、D 399 K、D 399 R、E 357 K、E 357 R、D 356 K、および D 356 R からなる群から選択される、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1172]

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大10個の単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1173]

前記単一アミノ酸置換のうちの最大6つが、前記 C H3ドメイン内の逆電荷変異である、本発明1099のポリペプチド。

[本発明1174]

前記単一アミノ酸置換が、E U の G 341 位～E U の K 447 位（両端を含む）の配列内にある、本発明1173のポリペプチド。

[本発明1175]

前記改変された突起を形成する変異のうちの少なくとも1つが、T 366 Y、T 366 W、T 394 W、T 394 Y、F 405 W、S 354 C、Y 349 T、および T 394 F からなる群から選択される、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1176]

前記2つまたは4つの逆電荷変異が、K 409 D、K 409 E、K 392 D、K 392 E、K 370 D、K 370 E、D 399 K、D 399 R、E 357 K、E 357 R、D 356 K、および D 356 R から選択される、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1178]

前記 V H ドメインまたは s c F v が、表1に記載の C D R - H1、C D R - H2、および C D R - H3 配列のセットを含む、本発明1123、1124、1135、および1136のいずれかのポリペプチド。

[本発明1179]

前記VHドメインまたはs c F vが、表2に記載の抗体の配列を含むVHドメインのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む、本発明1123、1124、1135、および1136のいずれかのポリペプチド。

[本発明1180]

前記VHドメインまたはs c F vが、表2に記載の抗体のVH配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、前記VH配列が、前記CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3の配列を除き、表2に記載の抗体のVH配列と少なくとも95%または98%同一である、本発明1123、1124、1135、および1136のいずれかのポリペプチド。

[本発明1181]

前記VHドメインまたはs c F vが、表2に記載の抗体のVH配列を含む、本発明1123、1124、1135、および1136のいずれかのポリペプチド。

[本発明1182]

前記VHドメインまたはs c F vが、表1に記載のCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3配列のセットを含む、本発明1123、1124、1135、および1136のいずれかのポリペプチド。

[本発明1183]

前記VHドメインまたはs c F vが、表2に記載の抗体のVH配列およびVL配列のセット由来のCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3配列を含む、本発明1123、1124、1135、および1136のいずれかのポリペプチド。

[本発明1184]

前記VHドメインまたはs c F vメインが、表2に記載の抗体のVH配列のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むVHドメインと、表2に記載の抗体のVL配列のCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むVLドメインと、を含み、前記VHドメイン配列および前記VLドメイン配列が、前記CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の配列を除き、表2に記載の抗体のVH配列およびVL配列と少なくとも95%または98%同一である、本発明1123、1124、1135、および1136のいずれかのポリペプチド。

[本発明1185]

前記VHドメインまたはs c F vが、表2に記載の抗体のVH配列およびVL配列のセットを含む、本発明1123、1124、1135、および1136のいずれかのポリペプチド。

[本発明1186]

I g G C L抗体定常ドメインと、I g G C H1抗体定常ドメインと、をさらに含む、本発明1122～1145のいずれかのポリペプチド。

[本発明1187]

本発明1002～1187のいずれかのポリペプチドをコードする、核酸分子。

[本発明1188]

本発明1187の核酸分子を含む、発現ベクター。

[本発明1189]

本発明1187の核酸分子を含む、宿主細胞。

[本発明1190]

本発明1188の発現ベクターを含む、宿主細胞。

[本発明1191]

本発明1189または本発明1190の宿主細胞を、前記ポリペプチドを発現させる条件下で培養することを含む、本発明1002～1187のいずれかのポリペプチドを産生する方法。

[本発明1192]

抗体VLドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、本発明1189の宿主細胞。

[本発明1193]

抗体 V L ドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、本発明1190の宿主細胞。

[本発明1194]

抗体 V L ドメインおよび抗体 C L ドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、本発明1189の宿主細胞。

[本発明1195]

抗体 V L ドメインおよび抗体 C L ドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、本発明1190の宿主細胞。

[本発明1196]

10個以下の単一アミノ酸変異を有する I g G1 F c ドメイン単量体を含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、本発明1189の宿主細胞。

[本発明1197]

10個以下の単一アミノ酸変異を有する I g G1 F c ドメイン単量体を含むポリペプチドをコードする核酸分子をさらに含む、本発明1190の宿主細胞。

[本発明1199]

前記 I g G1 F c ドメイン単量体が、C H3ドメイン中に10、8、6、または4つ以下の単一アミノ酸変異を有する配列番号42、43、45、および47のいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1196または1197の宿主細胞。

[本発明1200]

本発明1002～1186のいずれかのポリペプチドを含む、薬学的組成物。

[本発明1201]

前記ポリペプチドの40%、30%、20%、10%、5%、2%未満が、F c ドメイン単量体上に少なくとも1つのフコース修飾を有する、本発明1200の薬学的組成物。

[本発明1202]

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体および前記第2の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3の F c ドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わされて第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が組み合わされて第2の F c ドメインを形成する、本発明1001の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1203]

前記単一 F c ドメイン構築体が抗体である、本発明1001または1202の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1204]

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体および前記第2の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が組み合わされて第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が組み合わされて第2のFcドメインを形成する、組成物。

[本発明1205]

前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドもしくは前記第3のポリペプチドに結合されるか、または前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドに結合される、本発明1204の組成物。

[本発明1206]

前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、および前記第3のポリペプチドに結合される、本発明1204の組成物。

[本発明1207]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1208]

前記生物活性が、Fc受容体媒介性エフェクター機能である、本発明1207のFc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1209]

前記Fc受容体媒介性エフェクター機能が、ADCCおよびADCPおよび／またはCDC活性である、本発明1208のFc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1210]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合するスパーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含み、

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わされて第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が組み合わされて第2の F c ドメインを形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1211]

前記 C D 38 結合ドメインが、前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドもしくは前記第3のポリペプチドに結合されるか、または前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドに結合される、本発明1202、1207、または1210の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1212]

前記 C D 38 結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、および前記第3のポリペプチドに結合される、本発明1202、1207、または1210の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1213]

前記 C D 38 結合ドメインが、F a b である、本発明1001および1202～1212のいずれかの F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1214]

前記 C D 38 結合ドメインが、前記第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である、本発明1202～1212のいずれかの F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1215]

前記 C D 38 結合ドメインが、s c F v である、本発明1214の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1216]

前記 C D 38 結合ドメインが、V_H ドメインおよび C_H1 ドメインを含み、前記 V_H ドメインおよび C_H1 ドメインが、前記第1、第2、または第3のポリペプチドのアミノ酸配列の一部である、本発明1202～1212のいずれかの F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1217]

前記 C D 38 結合ドメインが、V_L ドメインをさらに含む、本発明1216の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1218]

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、前記 V_L ドメインを含む第4のポリペプチドを含む、本発明1217の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1219]

前記 V_H ドメインが、表1に記載の C D R－H1、C D R－H2、および C D R－H3 配列のセットを含む、本発明1216の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1220]

前記 V_H ドメインが、表2に記載の抗体の配列を含む V_H ドメインの C D R－H1、C D R－H2、および C D R－H3 を含む、本発明1216の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1221]

前記 V_H ドメインが、表2に記載の抗体の V_H 配列の C D R－H1、C D R－H2、および C D R－H3 を含み、前記 V_H 配列が、前記 C D R－H1、C D R－H2、および C D R－H3 配列を除き、表2に記載の抗体の V_H 配列と少なくとも95%同一である、本発明1216の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1222]

前記 V_H ドメインが、表2に記載の抗体の V_H 配列を含む、本発明1216の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1223]

前記 C D 38 結合ドメインが、表1に記載される C D R－H1、C D R－H2、C D R－H3

、C D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3の配列のセットを含む、本発明1001および1202～1215のいずれかのF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1224]

前記C D38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV_H配列およびV_L配列のセットからのC D R－H1、C D R－H2、C D R－H3、C D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3の配列を含む、本発明1001および1202～1215のいずれかのF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1225]

前記C D38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV_H配列のC D R－H1、C D R－H2、およびC D R－H3を含むV_Hドメインと、表2に記載される抗体のV_L配列のC D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3を含むV_Lドメインと、を含み、前記V_Hドメインの配列および前記V_Lドメインの配列が、前記C D R－H1、C D R－H2、C D R－H3、C D R－L1、C D R－L2、およびC D R－L3の配列を除き、表2に記載される抗体の前記V_H配列およびV_L配列に対して少なくとも95%同一である、本発明1001および1202～1215のいずれかのF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1226]

前記C D38結合ドメインが、表2に記載される抗体のV_H配列およびV_L配列のセットを含む、本発明1001および1202～1215のいずれかのF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1227]

I g G C_L抗体定常ドメインおよびI g G C_H1抗体定常ドメインをさらに含み、前記I g G C_H1抗体定常ドメインが、リンカーを介して前記第1のポリペプチドまたは前記第2のポリペプチドのN末端に結合している、本発明1001および1202～1212のいずれかのF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1228]

前記第1のF cドメイン単量体および前記第3のF cドメイン単量体が、前記第1のF cドメイン単量体と前記第3のF cドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、本発明1202～1227のいずれかのF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1229]

前記第2のF cドメイン単量体および前記第4のF cドメイン単量体が、前記第2のF cドメイン単量体と前記第4のF cドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、本発明1202～1228のいずれかのF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1230]

前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドが、同一のアミノ酸配列を有する、本発明1202～1228のいずれかのF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1231]

前記二量体形成選択性モジュールが、前記F cドメイン単量体の一方の前記C_H3ドメイン内に改変された空洞と、前記F cドメイン単量体の他方の前記C_H3ドメイン内に改変された突起と、を含み、前記改変された空洞および前記改変された突起が、F cドメイン単量体の空洞内突起対（*protuberance-into-cavity pair*）を形成するように配置されている、本発明1228または1229のF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1232]

前記改変された突起が、S354C、T366W、T366Y、T394W、T394F、およびF405Wからなる群から選択される少なくとも1つの修飾を含み、前記改変された空洞が、Y349C、T366S、L368A、Y407V、Y407T、Y407A、F405A、およびT394Sからなる群から選択される少なくとも1つの修飾を含む、本発明1231のF c抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1233]

前記 F c ドメイン単量体の一方が Y 407 V および Y 349 C を含み、前記 F c ドメイン単量体の他方が T 366 W および S 354 C を含む、本発明 1228 または 1229 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1234]

前記二量体形成選択性モジュールが、前記ドメイン単量体の一方の前記 C_H3 ドメイン内に負に荷電したアミノ酸と、前記 F c ドメイン単量体の他方の前記 C_H3 ドメイン内に正に荷電したアミノ酸と、を含み、前記負に荷電したアミノ酸および前記正に荷電したアミノ酸が、F c ドメインの形成を促進するように配置されている、本発明 1228 または 1229 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1235]

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D 399 K と、K 409 D または K 409 E のいずれかとを含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1236]

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K 392 D および D 399 K を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1237]

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、E 357 K および K 370 E を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1238]

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D 356 K および K 439 D を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1239]

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、K 392 E および D 399 K を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1240]

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、E 357 K および K 370 D を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1241]

前記第 1 の F c ドメイン単量体および前記第 3 の F c ドメイン単量体が各々、D 356 K および K 439 E を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1242]

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、S 354 C および T 366 W を含み、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、Y 349 C、T 366 S、L 368 A、および Y 407 V を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1243]

前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、S 354 C および T 366 W を含み、前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、Y 349 C、T 366 S、L 368 A、および Y 407 V を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1244]

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が各々、E 357 K または E 357 R を含み、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、K 370 D または K 370 E を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1245]

前記第 2 の F c ドメイン単量体および前記第 4 の F c ドメイン単量体が、K 370 D または K 370 E を含み、前記第 3 のポリペプチドおよび前記第 4 のポリペプチドが各々、E 357 K または E 357 R を含む、本発明 1234 の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明 1246]

I 253位の各アミノ酸修飾が、I 253Aである、本発明1257のFc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1259]

前記 F c ドメインのうちの少なくとも1つが、R 292位に少なくとも1つのアミノ酸修飾を含む、本発明1001および1202～1258のいずれかの F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1260]

R 292位の各アミノ酸修飾が独立して、R 292 D、R 292 E、R 292 L、R 292 P、R 292 Q、R 292 R、R 292 T、および R 292 Y からなる群から選択される、本発明1259の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1261]

R 292位の各アミノ酸修飾が、R 292 Pである、本発明1260の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1262]

前記 F c ドメイン単量体のうちの1つ以上が、I g G ヒンジドメイン、I g G C_H2 抗体定常ドメイン、および I g G C_H3 抗体定常ドメインを含む、本発明1001および1202～1261のいずれかの F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1263]

前記 F c ドメイン単量体が各々、I g G ヒンジドメイン、I g G C_H2 抗体定常ドメイン、および I g G C_H3 抗体定常ドメインを含む、本発明1262の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1264]

前記 I g G が、I g G1、I g G2a、I g G2b、I g G3、および I g G4 からなる群から選択されるサブタイプのものである、本発明1262または1263の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1265]

前記第1、第2、第3、および第4のポリペプチドの各々内の N 末端 A s p が、G l n に変異している、本発明1001および1202～1264のいずれかの F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1266]

前記第1、第2、第3、および第4のポリペプチドのうちの1つ以上が、C 末端リシンを欠く、本発明1001および1202～1265のいずれかの F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1267]

前記第1、第2、第3、および第4のポリペプチドが各々、C 末端リシンを欠く、本発明1266の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1268]

リンカーによって前記ポリペプチドのうちの1つ以上の N 末端または C 末端に結合されたアルブミン結合ペプチドをさらに含む、本発明1001および1202～1267のいずれかの F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1269]

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体および前記第2の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3の F c ドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または前記第3のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わされて第

1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が組み合わされて第2のFcドメインを形成する、細胞培養培地。

[本発明1270]

前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも75%が、前記第1のFcドメイン、前記第2のFcドメイン、および前記CD38結合ドメインを含む、本発明1269の細胞培養培地。

[本発明1271]

Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が構造的に同一であり、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも0.1mg/Lの濃度で前記培養培地中に存在する、細胞培養培地。

[本発明1272]

前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも75%が構造的に同一である、本発明1271の細胞培養培地。

[本発明1273]

前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも10mg/Lの濃度で前記培養培地中に存在する、本発明1269～1272のいずれかの細胞培養培地。

[本発明1274]

前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、少なくとも100mg/Lの濃度で前記培養培地中に存在する、本発明1269～1273のいずれかの細胞培養培地。

[本発明1275]

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

(2) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

(3) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合され、それによりFc抗原結合ドメイン構築体を形成し、細胞培養上清中の前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記Fc抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

[本発明1276]

Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドおよび／または前記第3のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体が組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメインおよび前記第2の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、組成物。

[本発明1277]

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、本発明1276の組成物。

[本発明1278]

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が各々、E357KおよびK370Dを含み、前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が各々、K370DおよびE357Kを含む、本発明1277の組成物。

[本発明1279]

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体および前記第2の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3の F c ドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、

f) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体が組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメイン、前記第2の抗原結合ドメイン、および前記第3の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、組成物。

[本発明1280]

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、本発明1279の組成物。

[本発明1281]

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が各々、E357KおよびK370Dを含み、前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が各々、K370DおよびE357Kを含む、本発明1280の組成物。

[本発明1282]

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第

1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i v) 第3の F c ドメイン単量体、

v) 第4の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第3の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体を結合する第2

のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体が組み合わさって第3の F c ドメインを形成する、組成物。

[本発明1283]

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が各々、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第5の F c ドメイン単量体が各々、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第4の F c ドメイン単量体および前記第6の F c ドメイン単量体が各々、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、本発明1282の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1284]

F c 抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第

1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i v) 第3の F c ドメイン単量体、

v) 第4の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第3の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体を結合する第2

のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、また

は前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含み、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成する、組成物。

[本発明1285]

前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第3のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が各々、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、本発明1284のFc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1286]

Fc抗原結合ドメイン構築体の実質的に均質な集団を含む組成物であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

i i) 第2のFcドメイン単量体、

i i i) 第3のFcドメイン単量体、

i v) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー、および

v) 前記第2のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

v i) 第4のFcドメイン単量体、

v i i) 第5のFcドメイン単量体、

v i i i) 第6のFcドメイン単量体、

i x) 前記第4のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体を結合する第3のリンカー、および

x) 前記第5のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体を結合する第4のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体が組み合わさって第4のFcドメインを形成し、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体が組み合わさって第5のFcドメインを形成し、

cドメインを形成する、組成物。

[本発明1287]

前記第2のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が各々、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1のFcドメイン単量体および前記第7のFcドメイン単量体が各々、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第4のFcドメイン単量体および前記第8のFcドメイン単量体が各々、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第3のFcドメイン単量体および前記第9のFcドメイン単量体が各々、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第6のFcドメイン単量体および前記第10のFcドメイン単量体が各々、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、本発明1286のFc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1288]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

i i) 第2のFcドメイン単量体、および

i i i) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドおよび／または前記第3のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1および前記第2の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害(ADCC)アッセイ、抗体依存性細胞貪食(ADCP)アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害(CDC)アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1289]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

i i) 第2のFcドメイン単量体、および

i i i) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドおよび／または前記第3のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1および前記第2の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1290]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合するスパーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドおよび／または前記第3のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメインおよび前記第2の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1291]

Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドおよび／または前記第3のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメインおよび前記第2の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、細胞培養培地。

[本発明1292]

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体および前記第2の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

(2) 第3の F c ドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

(3) 第4の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

(5) 前記第2のポリペプチドおよび／または第3のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと

を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第2の F c ドメインを形成し、前記 C D38結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合され、それにより F c 抗原結合ドメイン構築体を形成し、前記第1および前記第2の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、細胞培養上清中の前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

[本発明1293]

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、本発明1288、1289、1290、1291、または1292の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1294]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体および前記第2の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3の F c ドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、

f) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと

を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第2の F c ドメインを形成し、前記第1、前記第2、および前記第3の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (A D C C) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (A D C P) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (C D C) アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1295]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体および前記第2の F c ドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3の F c ドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、

f) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第2の F c ドメインを形成し、前記第1、前記第2、および前記第3の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1296]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合するス
ペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3の F c ドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、

f) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わせあって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体が組み合わせあって第2の F c ドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメイン、前記第2の抗原結合ドメイン、および前記第3の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1297]

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体および前記第2の F c ドメイン単量体を結合さ
せるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第3の F c ドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、

c) 第4の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、

e) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、
f) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第1の抗原結合ドメイン、前記第2の抗原結合ドメイン、および前記第3の抗原結合ドメインが異なる抗原に結合する、細胞培養培地。

[本発明1298]

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、
i) 第1のFcドメイン単量体、
ii) 第2のFcドメイン単量体、および
iii) 前記第1のFcドメイン単量体および前記第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、
(2) 第3のFcドメイン単量体を含む第2のポリペプチドと、
(3) 第4のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
(4) 前記第1のポリペプチドに結合された第1の抗原結合ドメインと、
(5) 前記第2のポリペプチドに結合された第2の抗原結合ドメインと、
(6) 前記第3のポリペプチドに結合された第3の抗原結合ドメインと
を発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記CD38結合ドメインが、前記第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、または第3のポリペプチドに結合され、それによりFc抗原結合ドメイン構築体を形成し、前記第1および前記第2の抗原結合ドメインが、異なる抗原に結合し、細胞培養上清中の前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記Fc抗原結合ドメイン構築体を精製することと
を含む、方法。

[本発明1299]

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が、前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のFcドメイン単量体および前記第4のFcドメイン単量体が、前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、前記第2のポリペプチドおよび前記第3のポリペプチドが異なるアミノ酸配列を有する、本発明1294、1295、1296、1297、または1298の組成物。

[本発明1300]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、
i) 第1のFcドメイン単量体、
ii) 第2のFcドメイン単量体、および
iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、
b) 第2のポリペプチドであって、
iv) 第3のFcドメイン単量体、
v) 第4のFcドメイン単量体、および

v i) 前記第3の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第3の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害 (A D C C) アッセイ、抗体依存性細胞貪食 (A D C P) アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害 (C D C) アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1301]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i v) 第3の F c ドメイン単量体、

v) 第4の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第3の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第3の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1302]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第1のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i v) 第3の F c ドメイン単量体、
v) 第4の F c ドメイン単量体、および
v i) 前記第3の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体を結合する第2
のスペーサー
を含む、第2のポリペプチドと、
c) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
d) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、
e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または
前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと
を含み、
前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体が組み合わさって第3の F c ドメインを形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1303]

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、
i) 第1の F c ドメイン単量体、
i i) 第2の F c ドメイン単量体、および
i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第
1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、
b) 第2のポリペプチドであって、
i v) 第3の F c ドメイン単量体、
v) 第4の F c ドメイン単量体、および
v i) 前記第3の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体を結合する第2
のリンカー
を含む、第2のポリペプチドと、
c) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
d) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、
e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または
前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと
を含み、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体が組み合わさって第3の F c ドメインを形成する、細胞培養培地。

[本発明1304]

F c 抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、
i) 第1の F c ドメイン単量体、
i i) 第2の F c ドメイン単量体、および
i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第
1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、
(2) 第2のポリペプチドであって、
i v) 第3の F c ドメイン単量体、
v) 第4の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第3の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

(3) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

(5) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を発現する宿主細胞を培養することであって、

前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体が組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体が組み合わさって第3の F c ドメインを形成し、細胞培養上清中の前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

[本発明1305]

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第3の F c ドメイン単量体が各々、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第5の F c ドメイン単量体が各々、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第4の F c ドメイン単量体および前記第6の F c ドメイン単量体が各々、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、本発明1300、1301、1302、1303、または1304の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1306]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、および

i i i) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i v) 第3の F c ドメイン単量体、

v) 第4の F c ドメイン単量体、および

v i) 前記第3の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第3の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第3の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結

合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害（ADCC）アッセイ、抗体依存性細胞貪食（ADCP）アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害（CDC）アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1307]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が、組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記Fc抗原結合ドメイン構築体が、単一Fcドメインと前記CD38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1308]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体

が、組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が、組み合わせさせて第3のFcドメインを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1309]

Fc抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わせさせて第3のFcドメインを形成する、細胞培養培地。

[本発明1310]

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、および

iii) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

(2) 第2のポリペプチドであって、

iv) 第3のFcドメイン単量体、

v) 第4のFcドメイン単量体、および

vi) 前記第3のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

(3) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

(5) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、または前記第4のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を発現する宿主細胞を培養することであって、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第4のFcドメイン単量体が組み合わせさせて第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わせさせて第2のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体が組み合わせさせて第3のFcドメインを形成し、細胞培養上清中の

前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記 F c 抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

[本発明1311]

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が各々、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第5の F c ドメイン単量体が各々、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第3の F c ドメイン単量体および前記第6の F c ドメイン単量体が各々、前記第3の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、本発明1306、1307、1308、1309、または1310の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1312]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第3の F c ドメイン単量体、

i v) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第1のリンカー、および

v) 前記第2の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

v i i) 第4の F c ドメイン単量体、

v i i) 第5の F c ドメイン単量体、

v i i i) 第6の F c ドメイン単量体、

i x) 前記第4の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体を結合する第3のリンカー、および

x) 前記第5の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体を結合する第4のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9の F c ドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10の F c ドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第1の F c ドメインを形成し、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第7の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第8の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第3の F c ドメインを形成し、前記第3の F c ドメイン単量体と前記第9の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第4の F c ドメインを形成し、前記第6の F c ドメイン単量体と前記第10の F c ドメイン単量体が、組み合わせあって第5の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメイ

ンと前記 C D38結合ドメインとを有する構築体と比較して、抗体依存性細胞傷害（A D C C）アッセイ、抗体依存性細胞貪食（A D C P）アッセイ、および／または補体依存性細胞傷害（C D C）アッセイにおいて強化されたエフェクター機能を有する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1313]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第3の F c ドメイン単量体、

i v) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第1のリンカー、および

v) 前記第2の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体を結合する第2のリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

v i) 第4の F c ドメイン単量体、

v i i) 第5の F c ドメイン単量体、

v i i i) 第6の F c ドメイン単量体、

i x) 前記第4の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体を結合する第3のリンカー、および

x) 前記第5の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体を結合する第4のリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9の F c ドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10の F c ドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第7の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第8の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第3の F c ドメインを形成し、前記第3の F c ドメイン単量体と前記第9の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第4の F c ドメインを形成し、前記第6の F c ドメイン単量体と前記第10の F c ドメイン単量体が、組み合わさって第5の F c ドメインを形成し、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体が、単一 F c ドメインと前記 C D38結合ドメインとを有する構築体では呈されない生物活性を含む、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1314]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第3の F c ドメイン単量体、

i v) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第1のスペーサー、および

v) 前記第2の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体を結合する第2の

スペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

v i) 第4の F c ドメイン単量体、

v i i) 第5の F c ドメイン単量体、

v i i i) 第6の F c ドメイン単量体、

i x) 前記第4の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体を結合する第3のスペーサー、および

x) 前記第5の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体を結合する第4のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9の F c ドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10の F c ドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインと

を含み、

前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体が組み合わさって第1の F c ドメインを形成し、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第7の F c ドメイン単量体が組み合わさって第2の F c ドメインを形成し、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第8の F c ドメイン単量体が組み合わさって第3の F c ドメインを形成し、前記第3の F c ドメイン単量体と前記第9の F c ドメイン単量体が組み合わさって第4の F c ドメインを形成し、前記第6の F c ドメイン単量体と前記第10の F c ドメイン単量体が組み合わさって第5の F c ドメインを形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1315]

F c 抗原結合ドメイン構築体の集団を含む細胞培養培地であって、前記 F c 抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第3の F c ドメイン単量体、

i v) 前記第1の F c ドメイン単量体と前記第2の F c ドメイン単量体を結合する第1のスペーサー、および

v) 前記第2の F c ドメイン単量体と前記第3の F c ドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

v i) 第4の F c ドメイン単量体、

v i i) 第5の F c ドメイン単量体、

v i i i) 第6の F c ドメイン単量体、

i x) 前記第4の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体を結合する第3のスペーサー、および

x) 前記第5の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体を結合する第4のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9の F c ドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、前記第3のポリペプチド、前記第4のポリペプチド、前記第5のポリペプチド、または前記第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを含む、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体が組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体が組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体が組み合わさって第4のFcドメインを形成し、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体が組み合わさって第5のFcドメインを形成する、細胞培養培地。

[本発明1316]

Fc抗原結合ドメイン構築体を製造する方法であって、

a) (1) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

i i) 第2のFcドメイン単量体、

i i i) 第3のFcドメイン単量体、

i v) 前記第1のFcドメイン単量体と前記第2のFcドメイン単量体を結合する第1のスペーサー、および

v) 前記第2のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体を結合する第2のスペーサー

を含む、第1のポリペプチドと、

(2) 第2のポリペプチドであって、

v i) 第4のFcドメイン単量体、

v i i) 第5のFcドメイン単量体、

v i i i) 第6のFcドメイン単量体、

i x) 前記第4のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体を結合する第3のスペーサー、および

x) 前記第5のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体を結合する第4のスペーサー

を含む、第2のポリペプチドと、

(3) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

(4) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

(5) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

(6) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

(7) 第1のポリペプチド、第2のポリペプチド、第3のポリペプチド、第4のポリペプチド、第5のポリペプチド、または第6のポリペプチドに結合された抗原結合ドメインとを発現する、宿主細胞を培養することであって、

前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体が、組み合わさって第1のFcドメインを形成し、前記第1のFcドメイン単量体と前記第7のFcドメイン単量体が、組み合わさって第2のFcドメインを形成し、前記第4のFcドメイン単量体と前記第8のFcドメイン単量体が、組み合わさって第3のFcドメインを形成し、前記第3のFcドメイン単量体と前記第9のFcドメイン単量体が、組み合わさって第4のFcドメインを形成し、前記第6のFcドメイン単量体と前記第10のFcドメイン単量体が、組み合わさって第5のFcドメインを形成し、細胞培養上清中の前記Fc抗原結合ドメイン構築体のモル基準で少なくとも50%が、構造的に同一である、培養することと、

b) 前記細胞培養上清から前記Fc抗原結合ドメイン構築体を精製することとを含む、方法。

[本発明1317]

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第5の F c ドメイン単量体が各々、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第7の F c ドメイン単量体が各々、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第7の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第4の F c ドメイン単量体および前記第8の F c ドメイン単量体が各々、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第8の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第3の F c ドメイン単量体および前記第9の F c ドメイン単量体が各々、前記第3の F c ドメイン単量体と前記第9の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含み、

前記第6の F c ドメイン単量体および前記第10の F c ドメイン単量体が各々、前記第6の F c ドメイン単量体と前記第10の F c ドメイン単量体との間の二量体形成を促進する相補的な二量体形成選択性モジュールを含む、本発明1312、1313、1314、1315、または1316の F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1318]

1つ以上の前記 F c ドメイン単量体が、先行する本発明のいずれかの抗原結合構築物またはポリペプチド。

[本発明1319]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第1の C D38重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第1および第2の F c ドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第3の F c ドメイン単量体、

i i) 第4の F c ドメイン単量体、

i i i) 第2の C D38重鎖結合ドメイン、および

i v) 前記第3および第4の F c ドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第6の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第1の C D38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、

f) 第2の C D38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドとを含み、

第1および第3の F c ドメイン単量体は、一緒になって第1の F c ドメインを形成し、第2および第5の F c ドメイン単量体は、一緒になって第2の F c ドメインを形成し、第4および第6の F c 単量体は、一緒になって第3の F c ドメインを形成し、第1の C D38重鎖結合ドメインと第1の C D38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1の F a b を形成し、第2の C D38重鎖結合ドメインと第2の C D38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1320]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、本発明1319の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1321]

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、本発明1319の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1322]

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、本発明1319のFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1323]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、本発明1319のFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1324]

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1319～1323のいずれかのFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1325]

前記Fcドメイン単量体の各々の前記CH3ドメインが、ヒトIgG1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1319～1323のいずれかのFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1326]

前記Fcドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1319～1323のいずれかのFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1327]

前記単一アミノ酸置換が、前記CH3ドメイン内のみにある、本発明1324～1326のいずれかのFc抗原ドメイン単量体。

[本発明1328]

前記第1のFcドメイン単量体および前記第3のFcドメイン単量体が、前記第1のFcドメイン単量体と前記第3のFcドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1319～1323のいずれかのFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1329]

前記第2のFcドメイン単量体および前記第5のFcドメイン単量体が、前記第2のFcドメイン単量体と前記第5のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第4のFcドメイン単量体および前記第6のFcドメイン単量体が、前記第4のFcドメイン単量体と前記第6のFcドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1319～1323のいずれかのFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1330]

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、本発明1328のFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1331]

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表3中の置換から選択される、本発明1329のFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1332]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、および

iv) 前記第1および第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、
i) 第3のFcドメイン単量体、
ii) 第4のFcドメイン単量体、
iii) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および
iv) 前記第3および第4のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第2のポリペプチドと、
c) 第5のFcドメイン単量体と第1のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、
d) 第6のFcドメイン単量体と第2のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第4のポリペプチドと
を含み、
第1および第3のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第2および第5のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第4および第6のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1333]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、
a) 第1のポリペプチドであって、
i) 第1のFcドメイン単量体、
ii) 第2のFcドメイン単量体、
iii) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、および
iv) 前記第1および第2のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第1のポリペプチドと、
b) 第2のポリペプチドであって、
i) 第3のFcドメイン単量体、
ii) 第4のFcドメイン単量体、
iii) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、および
iv) 前記第3および第4のFcドメイン単量体を結合させるリンカーを含む、第2のポリペプチドと、
c) 第5のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
d) 第6のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、
e) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、
f) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと
を含み、
前記第1および第5のFcドメイン単量体が、一緒になって第1のFcドメインを形成し、前記第3および第6のFcドメイン単量体が、一緒になって第2のFcドメインを形成し、前記第2および第4のFc単量体が、一緒になって第3のFcドメインを形成し、前記第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインが、一緒になって第1のFabを形成し、前記第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインが、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1334]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、本発明1333のFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1335]

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、本発明1333のFc抗原ドメイン構築体。

[本発明1336]

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、本発明1333

の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1337]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、本発明1333の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1338]

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1333～1337のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1339]

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H3ドメインが、ヒト I g G1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1333～1337のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1340]

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1333～1337のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1341]

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H3ドメイン内のみにある、本発明1333～1337のいずれかの F c 抗原ドメイン単量体。

[本発明1342]

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1333～1337のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1343]

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第5の F c ドメイン単量体が、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第3の F c ドメイン単量体および前記第6の F c ドメイン単量体が、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1333～1337のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1344]

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、本発明1342の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1345]

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表3中の置換から選択される、本発明1343の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1346]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第3の F c ドメイン単量体、

i v) 第1の C D38重鎖結合ドメイン、

v) 第1の F c ドメイン単量体と第2の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第2の F c ドメイン単量体と第3の F c ドメイン単量体を結合するリンカー

を含む、第1のポリペプチドと、
b) 第2のポリペプチドであって、
i) 第4の F c ドメイン単量体、
i i) 第5の F c ドメイン単量体、
i i i) 第6の F c ドメイン単量体、
i v) 第2の C D38重鎖結合ドメイン、
v) 第4の F c ドメイン単量体と第5の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および
v i) 第5の F c ドメイン単量体と第6の F c ドメイン単量体を結合するリンカー
を含む、第2のポリペプチドと、
c) 第7の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、
d) 第8の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、
e) 第9の F c ドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、
f) 第10の F c ドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、
g) 第1の C D38軽鎖結合ドメインを含む第7のポリペプチドと、
h) 第2の C D38軽鎖結合ドメインを含む第8のポリペプチドと
を含み、

第1および第7の F c ドメイン単量体は、一緒になって第1の F c ドメインを形成し、第4および第8の F c ドメイン単量体は、一緒になって第2の F c ドメインを形成し、第2および第5の F c 単量体は、一緒になって第3の F c ドメインを形成し、第3および第9の F c ドメイン単量体は、一緒になって第4の F c ドメインを形成し、第6および第10の F c 単量体は、一緒になって第5の F c ドメインを形成し、第1の C D38重鎖結合ドメインと第1の C D38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1の F a b を形成し、第2の C D38重鎖結合ドメインと第2の C D38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1347]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、本発明1346の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1348]

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、本発明1346の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1349]

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、本発明1346の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1350]

前記第7のポリペプチドおよび前記第8のポリペプチドの配列が同一である、本発明1346の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1351]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一であり、前記第7のポリペプチドおよび前記第8のポリペプチドの配列が同一である、本発明1346の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1352]

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1346～1351のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1353]

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H3ドメインが、ヒト I g G1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1346～1351のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1354]

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1346～1351のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1355]

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H3ドメイン内のみにある、本発明1346～1351のいずれかの F c 抗原ドメイン単量体。

[本発明1356]

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第5の F c ドメイン単量体が、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1346～1351のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1357]

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第7の F c ドメイン単量体が、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第7の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第4の F c ドメイン単量体および前記第8の F c ドメイン単量体が、前記第4の F c ドメイン単量体と前記第8の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第3の F c ドメイン単量体および前記第9の F c ドメイン単量体が、前記第3の F c ドメイン単量体と前記第9の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第6の F c ドメイン単量体および前記第10の F c ドメイン単量体が、前記第6の F c ドメイン単量体と前記第10の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1346～1351のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1358]

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、本発明1357の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1359]

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表3中の置換から選択される、本発明1358の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1360]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第3の F c ドメイン単量体、

i v) 第1の C D38重鎖結合ドメイン、

v) 第1の F c ドメイン単量体と第2の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第2の F c ドメイン単量体と第3の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第4の F c ドメイン単量体、

i i) 第5の F c ドメイン単量体、

i i i) 第6の F c ドメイン単量体、

i v) 第2の C D38重鎖結合ドメイン、

v) 第4の F c ドメイン単量体と第5の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第5の F c ドメイン単量体と第6の F c ドメイン単量体を結合するリンカー

を含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体と第1のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体と第2のCD38軽鎖結合ドメインとを含む第6のポリペプチドと

を含み、

第1および第7のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第4および第8のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第2および第5のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第3および第9のFcドメイン単量体は、一緒になって第4のFcドメインを形成し、第6および第10のFc単量体は、一緒になって第5のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1361]

Fc抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1のFcドメイン単量体、

ii) 第2のFcドメイン単量体、

iii) 第3のFcドメイン単量体、

iv) 第1のCD38重鎖結合ドメイン、

v) 第1のFcドメイン単量体と第2のFcドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第2のFcドメイン単量体と第3のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第4のFcドメイン単量体、

ii) 第5のFcドメイン単量体、

iii) 第6のFcドメイン単量体、

iv) 第2のCD38重鎖結合ドメイン、

v) 第4のFcドメイン単量体と第5のFcドメイン単量体を結合するリンカー、および

vi) 第5のFcドメイン単量体と第6のFcドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7のFcドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8のFcドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9のFcドメイン単量体を含む第5のポリペプチドと、

f) 第10のFcドメイン単量体を含む第6のポリペプチドと、

g) 第1のCD38軽鎖結合ドメインを含む第7のポリペプチドと、

h) 第2のCD38軽鎖結合ドメインを含む第8のポリペプチドと

を含み、

第1および第4のFcドメイン単量体は、一緒になって第1のFcドメインを形成し、第2および第7のFcドメイン単量体は、一緒になって第2のFcドメインを形成し、第5および第8のFc単量体は、一緒になって第3のFcドメインを形成し、第3および第9のFcドメイン単量体は、一緒になって第4のFcドメインを形成し、第6および第10のFc単量体は、一緒になって第5のFcドメインを形成し、第1のCD38重鎖結合ドメインと第1のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1のFabを形成し、第2のCD38重鎖結合ドメインと第2のCD38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2のFabを形成する、Fc抗原

結合ドメイン構築体。

[本発明1362]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、本発明1361のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1363]

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、本発明1361のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1364]

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、本発明1361のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1365]

前記第7のポリペプチドおよび前記第8のポリペプチドの配列が同一である、本発明1361のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1366]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一であり、前記第7のポリペプチドおよび前記第8のポリペプチドの配列が同一である、本発明1361のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1367]

前記F cドメイン単量体の各々の前記C H3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1361～1366のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1368]

前記F cドメイン単量体の各々の前記C H3ドメインが、ヒトI g G1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1361～1366のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1369]

前記F cドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1361～1366のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1370]

前記単一アミノ酸置換が、前記C H3ドメイン内のみにある、本発明1361～1366のいずれかのF c 抗原ドメイン単量体。

[本発明1371]

前記第1のF cドメイン単量体および前記第4のF cドメイン単量体が、前記第1のF cドメイン単量体と前記第4のF cドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1361～1366のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1372]

前記第2のF cドメイン単量体および前記第7のF cドメイン単量体が、前記第2のF cドメイン単量体と前記第7のF cドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第5のF cドメイン単量体および前記第8のF cドメイン単量体が、前記第5のF cドメイン単量体と前記第8のF cドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第3のF cドメイン単量体および前記第9のF cドメイン単量体が、前記第3のF cドメイン単量体と前記第9のF cドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第6のF cドメイン単量体および前記第10のF cドメイン単量体が、前記第6のF cドメイン単量体と前記第10のF cドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1361～

1366のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1373]

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、本発明1371の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1374]

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表3中の置換から選択される、本発明1372の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1375]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第3の F c ドメイン単量体、

i v) 第1の C D38重鎖結合ドメイン、

v) 第1の F c ドメイン単量体と第2の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第2の F c ドメイン単量体と第3の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第4の F c ドメイン単量体、

i i) 第5の F c ドメイン単量体、

i i i) 第6の F c ドメイン単量体、

i v) 第2の C D38重鎖結合ドメイン、

v) 第4の F c ドメイン単量体と第5の F c ドメイン単量体を結合するリンカー、および

v i) 第5の F c ドメイン単量体と第6の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

c) 第7の F c ドメイン単量体を含む第3のポリペプチドと、

d) 第8の F c ドメイン単量体を含む第4のポリペプチドと、

e) 第9の F c ドメイン単量体と第1の C D38軽鎖結合ドメインとを含む第5のポリペプチドと、

f) 第10の F c ドメイン単量体と第2の C D38軽鎖結合ドメインとを含む第6のポリペプチドと

を含み、

第1および第4の F c ドメイン単量体は、一緒になって第1の F c ドメインを形成し、第2および第7の F c ドメイン単量体は、一緒になって第2の F c ドメインを形成し、第5および第8の F c 単量体は、一緒になって第3の F c ドメインを形成し、第3および第9の F c ドメイン単量体は、一緒になって第4の F c ドメインを形成し、第6および第10の F c 単量体は、一緒になって第5の F c ドメインを形成し、第1の C D38重鎖結合ドメインと第1の C D38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1の F a b を形成し、第2の C D38重鎖結合ドメインと第2の C D38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1376]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第1の F c ドメイン単量体と第2の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第3の F c ドメイン単量体、

i i) 第4の F c ドメイン単量体、

i i i) 第3の F c ドメイン単量体と第4の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5の F c ドメイン単量体と第1の C D38重鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、

d) 第6の F c ドメイン単量体第2の C D38重鎖結合ドメインを含む第4のポリペプチドと、

e) 第1の C D38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、

f) 第2の C D38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドとを含む、

第1および第5の F c ドメイン単量体は、一緒になって第1の F c ドメインを形成し、第3および第6の F c ドメイン単量体は、一緒になって第2の F c ドメインを形成し、第2および第4の F c ドメイン単量体は、一緒になって第3の F c ドメインを形成し、第1の C D38重鎖結合ドメインと第1の C D38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第1の F a bを形成し、第2の C D38重鎖結合ドメインと第2の C D38軽鎖結合ドメインは、一緒になって第2の F a bを形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1377]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、本発明1202の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1378]

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、本発明1202の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1379]

前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、本発明1202の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1380]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチドおよび前記第6のポリペプチドの配列が同一である、本発明1202の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1381]

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1376～1380のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1382]

前記 F c ドメイン単量体の各々の前記 C H3ドメインが、ヒト I g G1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1376～1380のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1383]

前記 F c ドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1376～1380のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1384]

前記単一アミノ酸置換が、前記 C H3ドメイン内のみにある、本発明1376～1380のいずれかの F c 抗原ドメイン単量体。

[本発明1385]

前記第2の F c ドメイン単量体および前記第4の F c ドメイン単量体が、前記第2の F c ドメイン単量体と前記第4の F c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1376～1380のいずれ

かの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1386]

前記第1の F c ドメイン単量体および前記第5の F c ドメイン単量体が、前記第1の F c ドメイン単量体と前記第5の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第3の F c ドメイン単量体および前記第6の F c ドメイン単量体が、前記第3の F c ドメイン単量体と前記第6の F c ドメイン単量体との間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1376～1380のいずれかの F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1387]

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、本発明1385の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1388]

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表3中の置換から選択される、本発明1386の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1389]

F c 抗原結合ドメイン構築体であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 第1の F c ドメイン単量体、

i i) 第2の F c ドメイン単量体、

i i i) 第1の C D38重鎖結合ドメイン、および

i v) 第1の F c ドメイン単量体と第2の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第1のポリペプチドと、

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 第3の F c ドメイン単量体、

i i) 第4の F c ドメイン単量体、

i i i) 第2の C D38重鎖結合ドメイン、および

i v) 第3の F c ドメイン単量体と第4の F c ドメイン単量体を結合するリンカーを含む、第2のポリペプチドと、

c) 第5の F c ドメイン単量体と第3の C D38重鎖結合ドメインとを含む第3のポリペプチドと、

d) 第6の F c ドメイン単量体と第4の C D38軽鎖結合ドメインとを含む第4のポリペプチドと、

e) 第1の C D38軽鎖結合ドメインを含む第5のポリペプチドと、

f) 第2の C D38軽鎖結合ドメインを含む第6のポリペプチドと、

g) 第3の C D38軽鎖結合ドメインを含む第7のポリペプチドと、

h) 第4の C D38軽鎖結合ドメインを含む第8のポリペプチドと

を含み、

第1および第5の F c ドメイン単量体は、一緒になって第1の F c ドメインを形成し、第3および第6の F c ドメイン単量体は、一緒になって第2の F c ドメインを形成し、第2および第4の F c 単量体は、一緒になって第3の F c ドメインを形成し、第1の C D38軽鎖結合ドメインと第3の C D38重鎖結合ドメインは、一緒になって第1の F a b を形成し、第2の C D38軽鎖結合ドメインと第4の C D38重鎖結合ドメインは、一緒になって第2の F a b を形成し、第3の C D38軽鎖結合ドメインと第1の C D38重鎖結合ドメインは、一緒になって第3の F a b を形成し、第4の C D38軽鎖結合ドメインと第2の C D38重鎖結合ドメインは、一緒になって第2の F a b を形成する、F c 抗原結合ドメイン構築体。

[本発明1390]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一である、本発明1389の F c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1391]

前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一である、本発明1389のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1392]

前記第5のポリペプチド、前記第6のポリペプチド、前記第7のポリペプチド、および前記第8のポリペプチドの配列が同一である、本発明1389のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1393]

前記第1のポリペプチドおよび前記第2のポリペプチドの配列が同一であり、前記第3のポリペプチドおよび前記第4のポリペプチドの配列が同一であり、前記第5のポリペプチド、前記第6のポリペプチド、前記第7のポリペプチド、および前記第8のポリペプチドの配列が同一である、本発明1389のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1394]

前記F c ドメイン単量体の各々の前記C H3ドメインが、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1389～1393のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1395]

前記F c ドメイン単量体の各々の前記C H3ドメインが、ヒトI g G1のアミノ酸配列と比較して、最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1389～1393のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1396]

前記F c ドメイン単量体が各々独立して、最大10、8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を有する配列番号42、43、45、および47のうちのいずれかのアミノ酸配列を含む、本発明1389～1393のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1397]

前記単一アミノ酸置換が、前記C H3ドメイン内のみにある、本発明1389～1393のいずれかのF c 抗原ドメイン単量体。

[本発明1398]

前記第2のF c ドメイン単量体および前記第4のF c ドメイン単量体が、前記第2のF c ドメイン単量体と前記第4のF c ドメイン単量体との間のホモ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1389～1393のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1399]

前記第1および第5のF c ドメイン単量体が、前記第1および第5のF c ドメイン単量体間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含み、前記第3および第6のF c ドメイン単量体が、前記第3および第6のF c ドメイン単量体間のヘテロ二量体形成を促進する最大8、7、6、5、4、3、2、または1つの単一アミノ酸置換を含む、本発明1389～1393のいずれかのF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1400]

ホモ二量体形成を促進する前記置換が、表4Aおよび表4B中の置換から選択される、本発明1398のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1401]

ヘテロ二量体形成を促進する前記置換が、表3中の置換から選択される、本発明1399のF c 抗原ドメイン構築体。

[本発明1402]

各リンカーが、

[本発明1403]

[本発明1404]

[本発明1405]

[本発明1406]

[本 発 明 1405]

[本発明1407]

[本發明1409]

[本発明1410]

[本発明1411]

[本発明1412]

[本発明1413]

前記癌が、ダラツムマブまたは任意の他の治療用抗CD38モノクローナル抗体治療に耐性である、本発明1411または1412の方法。

[本発明1414]

前記自己免疫疾患が、以下の自己抗体介在性疾患：重症筋無力症（MG）、MuSK-MG、心筋炎、ランバート・イートン、筋無力症候群、神経ミオトニー、視神経脊髄炎、ナルコレプシー、急性運動性軸索型ニューロパチー、ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群、急性感覚失調性ニューロパチー、傍腫瘍性スティッフパーソン症候群、慢性ニューロパチー、末梢ニューロパチー、急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、膜性腎症、糸球体腎炎、肺胞蛋白症、CIPD、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性血小板減少性紫斑病、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、水疱性類天疱瘡、妊娠性類天疱瘡、後天性表皮水疱症、新生児エリテマトーデス、疱疹状皮膚炎、グレーヴス病、アディソン病、卵巣機能不全症、自己免疫性精巣炎、シェーグレン症候群、自己免疫性胃炎、関節リウマチ、SLE、ドライアイ疾患、血管炎（急性）、心臓炎、抗体関連型拒絶反応からなる群から選択される、本発明1411の方法。

[本発明1415]

前記悪性腫瘍が、形質芽球および形質細胞が病因を駆動する以下の疾患：ALアミロイドーシス、キャッスルマン病、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症（MGUS）、意義不明の二クローン性ガンマグロブリン血症、骨硬化性骨髓腫（POEMS症候群）、重鎖疾患、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫からなる群から選択される、本発明1411の方法。

【手続補正31】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2021530498000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 39/395, 47/68; C07K 16/46, 16/28, 16/30; A61P 35/04 (2019.01)

CPC - A61K 39/395, 39/39533, 47/68; C07K 16/46, 16/28, 16/30, 16/3896; A61P 35/04

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)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	WO 2017/151971 A2 (MOMENTA PHARMACEUTICALS, INC., et al.) 8 September 2017; Tables 1, 2A, 2B, 2C; page 1, lines 8-13 and 26-28; page 2, lines 13-35; page 3, lines 1-7; page 4, lines 16-22; page 5, lines 21-37; page 6, lines 29-37; page 7, lines 1-16; page 8, lines 29-40; page 11, lines 21-33; page 11, line 38 to page 12, line 19; page 13, lines 1-6 and 26-32; page 14, lines 26-31; page 15, lines 17-35; page 22, lines 5-31; page 26, lines 34-36; page 27, lines 22-38; page 28, lines 16-17; page 28, lines 25 to page 29, line 40; page 30, line 21 to page 31, line 10; page 31, line 26 to page 32, line 8; page 32, lines 27-35; page 33, line 3 to page 34, line 10; page 36, lines 3-15; page 37, line 9 to page 38, line 28; page 40, lines 30-39; page 45, lines 23-25; page 46, lines 1-8; page 46, line 38 to page 47, line 11; page 48, lines 16 to page 49, line 27; page 50, line 39 to line 51, line 4	122-123, 125-127, 129-131, 132/122-123, 132/125-131, 133/122-123, 133/125-131, 134-135, 137-143, 144/134-135, 144/137-143, 145/134-135, 145/136-143 1-11, 12/5-11, 16-19, 42/12/5-11, 62-71, 72/62-71, 76/72/62-71, 77-79, 102, 124, 128, 132/124, 133/124, 136, 144/136, 145/136, 178/123-124, 178/135-136, 182/123-124, 182/135-136, 202, 203/1, 203/202

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"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

9 December 2019 (09.12.2019)

Date of mailing of the international search report

02 JAN 2020

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Shane Thomas

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2017/025323 A1 (COLLECTIS) 16 February 2017; Table 2; page 24, lines 7-9; page 25, lines 25-26; page 40, lines 20-33; page 65, lines 6-8; page 71, lines 1-10; page 90, lines 11-15; page 101, lines 12-13; page 102, lines 20-24	1-11, 12/5-11, 16-19, 42/12/5-11, 62-71, 72/62-71, 76/72/62-71, 77-79, 102, 124, 128, 132/124, 133/124, 136, 144/136, 145/136, 178/123-124, 178/135-136, 182/123-124, 182/135-136, 202, 203/1, 203/202
Y	WO 2017/205434 A1 (MOMENTA PHARMACEUTICALS, INC.) 30 November 2017; page 1, lines 15-17; page 2, lines 7-9; page 8, lines 15-29; page 9, lines 6-9; page 28, lines 22-25; page 30, lines 14-23; page 31, lines 19-20; page 32, line 38 to page 33, line 9; page 34, lines 27-31; page 42, line 24 to page 43, line 10; page 60, lines 5-16	1, 202, 203/202
A	US 2015/0353636 A1 (GENMAB B.V.) 10 December 2010; entire document	1-11, 12/5-11, 16-19, 42/12/5-11, 62-71, 72/62-71, 76-79, 102, 122-131, 132/122-131, 133/122-131, 134-143, 144/134-143, 145/134-143, 178/123-124, 178/135-136, 182/123-124, 182/135-136, 202, 203/1, 203/202
A	WO 2016/107082 A1 (GLIKNIK, INC.) 14 June 2016; entire document	1-11, 12/5-11, 16-19, 42/12/5-11, 62-71, 72/62-71, 76-79, 102, 122-131, 132/122-131, 133/122-131, 134-143, 144/134-143, 145/134-143, 178/123-124, 178/135-136, 182/123-124, 182/135-136, 202, 203/1, 203/202

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☐ forming part of the international application as filed:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 13-15, 20-41, 43-61, 73-75, 80-101, 103-121, 146-176, 186-201, 213-268, 274, 318, 327, 402-415
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-***-Please See Supplemental Page-***-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-12, 16-19, 42, 62-72, 76-79, 102, 122-145, 178 (in-part), 182 (in-part), 202, 203; SEQ ID NO: 85 (CDRH1), SEQ ID NO: 115 (CDRH2), SEQ ID NO: 148 (CDRH3), SEQ ID NO: 180 (CDRL1), DAS (CDRL2), SEQ ID NO: 211 (CDRL3)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

-***-Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking: -***-

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+, Claims 1-12, 16-19, 42, 62-72, 76-79, 102, 122-145 178-185, 202, 203, and a CD38-binding scFv encompassing a CDRH1 with SEQ ID NO: 85 (CDRH1), a CDRH2 with SEQ ID NO: 115 (CDRH2), a CDRH3 with SEQ ID NO: 148 (CDRH3), a CDRL1 with SEQ ID NO: 180 (CDRL1), a CDRL2 with sequence DAS (CDRL2), and a CDRL3 with SEQ ID NO: 211 (CDRL3) are directed toward an Fc-antigen binding domain construct polypeptide comprising a heterodimerizing or homodimerizing selectivity module.

The antigen binding domain construct polypeptides will be searched to the extent they encompass a CD38-binding scFv encompassing a CDRH1 with SEQ ID NO: 85 (first exemplary CDRH1), a CDRH2 with SEQ ID NO: 115 (first exemplary CDRH2), a CDRH3 with SEQ ID NO: 148 (first exemplary CDRH3), a CDRL1 with SEQ ID NO: 180 (first exemplary CDRL1), a CDRL2 with sequence DAS (first exemplary CDRL2), and a CDRL3 with SEQ ID NO: 211 (first exemplary CDRL3). Applicant is invited to elect additional scFv(s), with corresponding set(s) of CDRs, with specified SEQ ID NO: (or, for short sequences, such as CDRL2, specified sequences) for each, such that the sequence(s) of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), where available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional set(s) of scFv sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-12, 16-19, 42, 62-72, 76-79, 102, 122-145, 178 (in-part), 182 (in-part), 202 and 203 encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass a CD38-binding scFv encompassing a CDRH1 with SEQ ID NO: 85 (CDRH1), a CDRH2 with SEQ ID NO: 115 (CDRH2), a CDRH3 with SEQ ID NO: 148 (CDRH3), a CDRL1 with SEQ ID NO: 180 (CDRL1), a CDRL2 with sequence DAS (CDRL2), and a CDRL3 with SEQ ID NO: 211 (CDRL3). Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be an Isatuximab scFv encompassing a CDRH1 with SEQ ID NO: 86 (CDRH1), a CDRH2 with SEQ ID NO: 109 (CDRH2), a CDRH3 with SEQ ID NO: 149 (CDRH3), a CDRL1 with SEQ ID NO: 181 (CDRL1), a CDRL2 with sequence SAS (CDRL2), and a CDRL3 with SEQ ID NO: 212 (CDRL3).

Group II, Claims 204-212, 268-273, 275-281, and 288-299 are directed toward compositions, cell culture media, and methods of manufacturing comprising an Fc-antigen binding domain construct, comprising a first polypeptide, a second polypeptide comprising a third Fc domain monomer; c) a third polypeptide comprising a fourth Fc domain monomer; wherein the first Fc domain monomer and the third Fc domain monomer combine to form a first Fc domain and the second Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer combine to form a second Fc domain.

Group III, Claims 282-283, 300-305, 319-326, and 328-332 are directed toward compositions, cell culture media, and methods of manufacturing comprising a first, second, third and fourth polypeptide, and first-sixth Fc domain monomers, wherein the first Fc domain monomer and the third Fc domain monomer combine to form a first Fc domain and the second Fc domain monomer and the fifth Fc domain monomer combine to form a second Fc domain, the fourth Fc domain monomer and the sixth Fc domain monomer combine to form a third Fc domain.

Group IV, Claims 284-285, 306-311, 333-345, and 376-401 are directed toward a composition, cell culture, and method of manufacturing comprising an Fc-antigen binding domain construct comprising first, second, third, and fourth polypeptides, and first-sixth Fc domain monomers, wherein the second Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer combine to form a first Fc domain and the first Fc domain monomer and the fifth Fc domain monomer combine to form a second Fc domain, the third Fc domain monomer and the sixth Fc domain monomer combine to form a third Fc domain.

-***-Continued Within the Next Supplemental Box-***-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

-***-Continued from Previous Supplemental Box-***-

Group V, Claims 286-287, 312-317, and 346-375 are directed toward a composition, cell culture, and method of manufacturing comprising Fc-antigen binding domain construct, comprising first-sixth polypeptides, and first-tenth Fc domain monomers, wherein the second Fc domain monomer and the fifth Fc domain monomer combine to form a first Fc domain and the first Fc domain monomer and the seventh Fc domain monomer combine to form a second Fc domain, the fourth Fc domain monomer and the eighth Fc domain monomer combine to form a third Fc domain, the third Fc domain monomer and the ninth Fc domain monomer combine to form a fourth Fc domain, and the sixth Fc domain monomer and the tenth Fc domain monomer combine to form a fifth Fc domain.

The inventions listed as Groups I+ and II-V do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Groups I+ include heterodimerizing or homodimerizing selectivity module, not present in any other Groups; the special technical features of Group II include wherein the first Fc domain monomer and the third Fc domain monomer combine to form a first Fc domain and the second Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer combine to form a second Fc domain, not present in any other Groups; the special technical features of Group III include wherein the first Fc domain monomer and the third Fc domain monomer combine to form a first Fc domain and the second Fc domain monomer and the fifth Fc domain monomer combine to form a second Fc domain, the fourth Fc domain monomer and the sixth Fc domain monomer combine to form a third Fc domain, not present in any other Groups; the special technical features of Group IV include wherein the second Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer combine to form a first Fc domain and the first Fc domain monomer and the fifth Fc domain monomer combine to form a second Fc domain, the third Fc domain monomer and the sixth Fc domain monomer combine to form a third Fc domain; the special technical features of Group V include a seventh, eighth, ninth, and tenth Fc domain, not present in any other Groups.

Groups I+ and II-V share the technical features including: a composition comprising an Fc-antigen binding domain construct, wherein the Fc-antigen binding domain construct comprises an antigen binding domain and a first Fc domain joined to a second Fc domain by a linker.

Groups I+ and III-V share the technical features including a CD38 binding domain.

Groups II-V share the technical features including: a composition comprising a substantially homogenous population of an Fc-antigen binding domain construct comprising: a) a first polypeptide comprising i) a first Fc domain monomer, ii) a second Fc domain monomer, iii) a first linker or spacer joining the first Fc domain monomer and the second Fc domain monomer; b) a second polypeptide comprising vi) an Fc domain monomer; c) a third polypeptide comprising an Fc domain monomer; and d) an antigen binding domain joined to the first polypeptide, second polypeptide, or the third polypeptide; and a second antigen binding domain (Fab); wherein the second Fc domain monomer and another Fc domain monomer combine to form an Fc domain; and the first Fc domain monomer and another Fc domain monomer combine to form an Fc domain, wherein the Fc-antigen binding domain construct has enhanced effector function in an antibody-dependent cytotoxicity (ADCC) assay, an antibody-dependent cellular phagocytosis (ADCP) and/or complement-dependent cytotoxicity (CDC) assay relative to a construct having a single Fc domain and the antigen binding domain, and wherein the Fc-antigen binding domain construct comprises a biological activity that is not exhibited by a construct having a single Fc domain and the antigen binding domain; a cell culture medium comprising a population of Fc-antigen binding domain constructs, wherein at least 50% of the Fc-antigen binding domain constructs, on a molar basis, comprise the structure; a method of manufacturing an Fc-antigen binding domain construct, the method comprising: a) culturing a host cell expressing the Fc-antigen binding domain construct; and wherein at least 50% of the Fc-antigen binding domain constructs in a cell culture supernatant, on a molar basis, are structurally identical, and b) purifying the Fc-antigen binding domain construct from the cell culture supernatant.

Groups II and III share the technical features including: wherein the first Fc domain monomer and the third Fc domain monomer combine to form a first Fc domain. Groups II and IV share the technical features including: a third antigen binding domain (Fab); and wherein the second Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer combine to form an Fc domain. Groups III and V share the technical features including: wherein the second Fc domain monomer and the fifth Fc domain monomer combine to form an Fc domain.

Groups III-V share the technical features including: an Fc-antigen binding domain construct comprising: a) a first polypeptide comprising: i) at least two Fc domain monomers, ii) a first CD38 heavy chain binding domain, and iv) a linker joining the Fc domain monomers; b) a second polypeptide comprising: i) at least two Fc domain monomers, ii) a second CD38 heavy chain binding domain; and iii) a linker joining the Fc domain monomers; e) an additional polypeptide comprising a first CD38 light chain binding domain; and f) a further polypeptide comprising a second CD38 light chain binding domain; and any of SEQ ID NOs: 42, 43, 45, and 47, having up to 10 amino acid substitutions. Groups III and IV share the technical features including: an Fc-antigen binding domain construct comprising: a) a first polypeptide comprising: i) a first Fc domain monomer, ii) a second Fc domain monomer iii) a first CD38 heavy chain binding domain, and iv) a linker joining the first and second Fc domain monomers; b) a second polypeptide comprising: i) a third Fc domain monomer, ii) a fourth Fc domain monomer iii) a second CD38 heavy chain binding domain; e) a fifth polypeptide comprising a first CD38 light chain binding domain; f) a sixth polypeptide comprising a second CD38 light chain binding domain.

However, these shared technical features are previously disclosed by WO 2017/205434 A1 to Momenta Pharmaceuticals, Inc. (hereinafter "Momenta") in view of WO 2018/107082 A1 to Gliknik, Inc. (hereinafter "Gliknik"), further in view of US 2017/0066826 A2 to Bosques et al. (hereinafter "Bosques"), and US 2015/0353636 A1 to Genmab B.V. (hereinafter "Genmab").

-***-Continued Within the Next Supplemental Box-***-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

-***-Continued from Previous Supplemental Box-***-

Momenta discloses a composition comprising (a composition comprising; page 1, line 38 - page 2, line 6) an Fc-antigen binding domain construct (an Fc-domain construct comprising an antigen-recognition region (an Fc-antigen binding domain construct); page 1, lines 15-17, page 28, lines 22-25) comprising: a first polypeptide comprising i) a first Fc domain monomer (comprising: a first polypeptide comprising i) a first Fc domain monomer; page 2, lines 7-9), ii) a second Fc domain monomer (a second Fc domain monomer; page 2, lines 7-9), and a linker joining the first Fc domain monomer and the second Fc domain monomer (a glycine spacer (linker) joining the first Fc domain monomer and the second Fc domain monomer page 2, lines 7-9); and an antigen-binding domain (an antigen-binding domain; page 28, lines 22-25, page 31, lines 19-20);

a composition comprising a substantially homogenous population of an Fc-antigen binding domain construct (a composition comprising a substantially homogenous population of an Fc-antigen binding domain construct; page 1, lines 15-17, page 28, lines 22-25, page 31, lines 19-20) comprising: a) a first polypeptide comprising i) a first Fc domain monomer (comprising: a) a first polypeptide comprising i) a first Fc domain monomer; page 9, lines 6-9), ii) a second Fc domain monomer (a second Fc domain monomer; page 9, lines 6-9), iii) a first linker or spacer joining the first Fc domain monomer and the second Fc domain monomer (a linker joining the first Fc domain monomer and the second Fc domain monomer; page 9, lines 6-9); b) a second polypeptide comprising vi) an Fc domain monomer (b) a second polypeptide comprising vi) an Fc domain monomer; page 2, lines 7-10); c) a third polypeptide comprising an Fc domain monomer (a third polypeptide comprising an Fc domain monomer; page 2, line 11); an antigen binding domain (an antigen-binding domain; page 28, lines 22-25, page 31, lines 19-20); wherein the second Fc domain monomer and another Fc domain monomer combine to form an Fc domain (wherein B (the second Fc domain monomer) and another Fc domain monomer combine to form an Fc domain; page 2, lines 12-14); and the first Fc domain monomer and another Fc domain monomer combine to form an Fc domain (and A (the first Fc domain monomer) and another Fc domain monomer combine to form an Fc domain; page 2, lines 12-14); a cell culture medium comprising a population of Fc-antigen binding domain constructs (a cell culture medium comprising a population of Fc-antigen binding domain constructs; page 28, lines 9-15), wherein at least 50% of the Fc-antigen binding domain constructs, on a molar basis, comprise the structure (wherein the construct is at least 85% homogeneous (wherein at least 50% of the Fc-antigen binding domain constructs, on a molar basis, comprise the structure); page 2, lines 1-3; page 28, lines 9-15); a method of manufacturing an Fc-antigen binding domain construct (a method of manufacturing an Fc domain construct comprising an antigen-binding region (an Fc-antigen binding domain construct); page 26, lines 19-22; page 28, lines 22-25), the method comprising: a) culturing a host cell expressing the construct (the method comprising: a) culturing a host cell expressing the construct; page 26, lines 19-22) and wherein at least 50% of the Fc-antigen binding domain constructs in a cell culture supernatant, on a molar basis, are structurally identical (wherein the construct is at least 85% homogeneous (wherein at least 50% of the Fc-antigen binding domain constructs in a cell culture supernatant, on a molar basis, are structurally identical) page 2, lines 1-3; page 28, lines 9-15), and b) purifying the Fc-antigen binding domain construct from the cell culture supernatant (recovering (purifying) purifying the Fc-domain construct comprising an antigen-binding domain (Fc-antigen binding domain construct) from the cell culture supernatant; page 28, lines 19-22; page 81, line 3);

an Fc-antigen binding domain construct (an Fc-domain construct comprising an antigen-recognition region (an Fc-antigen binding domain construct); page 1, lines 15-17, page 28, lines 22-25) comprising: b) a second polypeptide comprising iv) a third Fc domain monomer (comprising: b) a second polypeptide comprising iv) an A' (third) Fc domain monomer; page 2, lines 7-14), v) a fourth Fc domain monomer (a B' (fourth) Fc domain monomer; page 2, lines 7-14), and vi) a second linker joining the third Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer (and vi) a L' (second) linker joining the third Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer; page 2, lines 7-14); and c) a third polypeptide comprising a fifth Fc domain monomer (a third polypeptide comprising a fifth Fc domain monomer; page 2, lines 7-14); d) a fourth polypeptide comprising a sixth Fc domain monomer (a fourth polypeptide comprising a sixth Fc domain monomer; page 2, lines 7-14); and e) an antigen binding domain joined to the first polypeptide, second polypeptide, third polypeptide, or fourth polypeptide (an antigen binding domain (joined to the first polypeptide, second polypeptide, third polypeptide, or fourth polypeptide); page 28, lines 22-25, page 31, lines 19-20); and wherein the Fc domain monomers combine to form three Fc domains (wherein the Fc domain monomers combine to form three Fc domains; page 2, lines 7-14). Momenta further discloses wherein Fc constructs having an appropriate spacer length exhibit inhibition of calcium flux (an enhanced biological effect), relative to monomeric constructs (wherein Fc constructs having an appropriate spacer length exhibit inhibition of calcium flux (an enhanced biological effect), relative to monomeric constructs; page 85, lines 4-6; Figure 9; wherein the monomeric IVIg has the lowest inhibitory effect, based on the need for a higher dose to achieve effect, relative to the Fc constructs); an Fc domain encompassing a sequence identical to, but one residue shorter than SEQ ID NO: 42 (SEQ ID NO: 49 (an Fc domain encompassing a sequence identical to, but one residue shorter than SEQ ID NO: 42); page 3, lines 13-24; wherein SEQ ID NO: 49 is 100% identical to, but one (K) residue shorter than applicants' SEQ ID NO: 42); and wherein the Fc constructs include modifications that increase affinity for an Fc receptor (wherein the Fc constructs include modifications that increase affinity for an Fc receptor; page 48, lines 1-5).

-***-Continued Within the Next Supplemental Box-***-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

-***-Continued from Previous Supplemental Box-***-

Momenta does not disclose: a CD38 binding domain; a second polypeptide comprising a fourth Fc domain monomer; c) a third polypeptide comprising a fifth Fc domain monomer; an antigen binding domain joined to at least one polypeptide; and a second antigen binding domain (Fab); wherein the first Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer combine to form a first Fc domain; and wherein the third Fc domain monomer and the fifth Fc domain monomer combine to form a third Fc domain; wherein the antigen-binding domain is joined to the first polypeptide; wherein the second Fc domain monomer and the fourth Fc domain monomer combine to form a second Fc domain; wherein the antigen-binding domain is joined to the third polypeptide; wherein the Fc-antigen binding domain construct has enhanced effector function in an antibody-dependent cytotoxicity (ADCC) assay, an antibody-dependent cellular phagocytosis (ADCP) and/or complement-dependent cytotoxicity (CDC) assay relative to a construct having a single Fc domain and the antigen binding domain; and wherein the Fc-antigen binding domain construct comprises a biological activity that is not exhibited by a construct having a single Fc domain and the antigen binding domain; an Fc-antigen binding domain construct comprising: a) a first polypeptide comprising: i) at least two Fc domain monomers, ii) a first CD38 heavy chain binding domain, and iv) a linker joining the Fc domain monomers; b) a second polypeptide comprising: i) at least two Fc domain monomers, ii) a second CD38 heavy chain binding domain; and iii) a linker joining the Fc domain monomers; e) an additional polypeptide comprising a first CD38 light chain binding domain; and f) a further polypeptide comprising a second CD38 light chain binding domain; and any of SEQ ID NOs: 42, 43, 45, and 47, having up to 10 amino acid substitutions. Groups III and IV share the technical features including: an Fc-antigen binding domain construct comprising: a) a first polypeptide comprising: i) a first Fc domain monomer, ii) a second Fc domain monomer iii) a first CD38 heavy chain binding domain, and iv) a linker joining the first and second Fc domain monomers; b) a second polypeptide comprising: i) a third Fc domain monomer, ii) a fourth Fc domain monomer iii) a second CD38 heavy chain binding domain; e) a fifth polypeptide comprising a first CD38 light chain binding domain; f) a sixth polypeptide comprising a second CD38 light chain binding domain.

Gliknik discloses a multi-Fc construct (a multi-Fc construct; paragraph [0015]), comprising a first polypeptide comprising more than one Fc domain monomers (comprising a first polypeptide comprising a first and a second (more than one) Fc domain monomers; paragraph [0015]), a second polypeptide chain comprising a further, individual, Fc domain monomer (a second polypeptide chain comprising a third (further, individual) Fc domain monomer; paragraph [0015]), and a third polypeptide comprising an additional, individual, Fc domain monomer (a third polypeptide comprising a fourth (additional, individual) Fc domain monomer; paragraph [0015]); wherein the first Fc domain monomer combines with the third Fc domain monomer to form an Fc domain (wherein the first Fc domain monomer combines with the third Fc domain monomer to form an Fc domain; paragraph [0015]), and the second Fc domain monomer combines with the fourth Fc domain monomer to form a second Fc domain (second Fc domain monomer combines with the fourth Fc domain monomer to form a second Fc domain; paragraph [0015]).

Bosques discloses an engineered Fc construct (an engineered Fc construct; abstract) polypeptide comprising SEQ ID NO: 42 (a polypeptide comprising SEQ ID NO: 30 (SEQ ID NO: 42); paragraph [0144]; wherein SEQ ID NO: 30 is 100% identical to Applicants' SEQ ID NO: 42).

Genmab discloses polypeptides with enhanced CDC activity (polypeptides with enhanced CDC activity; paragraph [0018]), including mutated Fc domains (including mutated Fc domains; paragraph [0019]), to affect intermolecular Fc:Fc interactions (to affect intermolecular Fc:Fc interactions; paragraph [0333]); and multispecific antibodies (multispecific antibodies; paragraph [0141]); including antibodies which bind to CD38 (including antibodies which bind to CD38; paragraph [0247]), such as an scFv fragment fused to an Fc domain (such as an scFv fragment fused to an Fc domain; paragraph [0425]); for use as a medicament for the treatment of diseases or disorders (for use as a medicament for the treatment of diseases or disorders; paragraph [0524]).

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have modified the disclosure of Momenta to have provided wherein the antigen binding region comprises a biological activity that is not exhibited by a construct having a single Fc domain and the antigen binding domain, based on the disclosure of Momenta, due to the effects demonstrated by the properly linked Fc domain constructs, even in the absence of the antigen binding domain. Additionally, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have modified the disclosure of Momenta to have provided wherein the Fc-antigen binding domain construct has enhanced effector function in an antibody-dependent cytotoxicity (ADCC) assay, an antibody-dependent cellular phagocytosis (ADCP) and/or complement-dependent cytotoxicity (CDC) assay relative to a construct having a single Fc domain and the antigen binding domain, based on the use of one or more modified Fc domains having increased affinity for an Fc receptor, as disclosed by Momenta, wherein only a portion of the Fc domains were so modified, in order to enable the tailoring of effector functions, while producing enhanced effector activity based on the binding of the Fc domain to its receptor. It further would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have modified the disclosure of Momenta to have provided a single polypeptide comprising a plurality of Fc-domains, such as three, as disclosed by Momenta, in combination with additional polypeptides, each comprising only one corresponding Fc domain monomer, as disclosed by Gliknik, in order to produce Fc domains using specific pairs, such as the first domain and fourth domain, the second domain, and the fourth domain or fifth domain, and the third domain and the fifth domain, in order to modulate the composition of the Fc domains to alter receptor affinity or effector functions, to produce effective immune modulation. It also would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have modified the disclosure of Momenta to have used a full-length Fc domain sequence, as disclosed by Bosques, in order to provide a terminal lysine residue for the optional conjugation of additional moieties, such as biocompatible polymers, in order to enhance the half-life in vivo of the construct. Furthermore, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have modified the disclosure of Momenta to have provided a binding polypeptide, including one comprising antibody heavy and light chains fused to Fc domains bearing mutations to affect the interactions of Fc domains with each other, as disclosed by Genmab, to have provided the Fc-domain comprising constructs disclosed by Momenta, fused to heavy and/or light chain domains that bind to CD38, in order to produce an effective therapeutic for the treatment of disease, as disclosed by Genmab.

-***-Continued Within the Next Supplemental Box-***-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US19/41468

-***-Continued from Previous Supplemental Box-***-

Groups I+ share the technical features including: an Fc-antigen binding domain construct comprising a polypeptide comprising an CD38 binding domain; a linker; a first IgG1 Fc domain monomer comprising a hinge domain, a CH2 domain and a CH3 domain; a second linker; a second IgG1 Fc domain monomer comprising a hinge domain, a CH2 domain and a CH3 domain; wherein at least two Fc domain monomers comprise either a heterodimerizing selectivity module or a homodimerizing selectivity module; wherein at least one Fc domain monomer comprises one, two or three reverse charge amino acid mutations; and wherein at least one Fc domain monomer comprises mutations forming an engineered protuberance.

However, these shared technical features are previously disclosed by Momenta, as above, in view of Genmab, as above.

Momenta discloses an Fc-antigen binding domain construct (an Fc-domain construct comprising an antigen-recognition region (an Fc-antigen binding domain construct); page 1, lines 15-17, page 28, lines 22-25) comprising an antigen binding domain (a polypeptide comprising an antigen binding domain; page 9, lines 6-9; page 28, lines 22-25) a linker; (a linker (page 9, lines 6-9); a first IgG1 Fc domain monomer (a first IgG1 Fc domain monomer; page 2, lines 38-39, page 3, lines 1-2; page 9, lines 6-9) comprising a hinge domain, a CH2 domain and a CH3 domain (comprising a hinge domain, a CH2 domain and a CH3 domain; page 2, lines 38-39, page 3, lines 1-2; page 9, lines 6-9); a second linker; (a second linker; page 9, lines 6-9); a second IgG1 Fc domain monomer (a second IgG1 Fc domain monomer; page 2, lines 38-39, page 3, lines 1-2; page 9, lines 6-9) comprising a hinge domain, a CH2 domain and a CH3 domain (comprising a hinge domain, a CH2 domain and a CH3 domain; page 2, lines 38-39, page 3, lines 1-2; page 9, lines 6-9), wherein at least two Fc domain monomers comprise either a heterodimerizing selectivity module or a homodimerizing selectivity module (wherein at least two Fc domain monomers comprise either a heterodimerizing selectivity module or a homodimerizing selectivity module; page 8, lines 22-26); wherein at least one Fc domain monomer comprises one, two or three reverse charge amino acid mutations (wherein at least one other Fc domain monomer comprises at least one, two or three reverse charge mutations; page 9, lines 31-37); and wherein at least one Fc domain monomer comprises mutations forming an engineered protuberance (wherein at least one Fc domain monomer comprises mutations forming an engineered protuberance; page 8, lines 22-28).

Momenta does not disclose a CD38 binding domain.

Genmab discloses polypeptides with enhanced CDC activity (polypeptides with enhanced CDC activity; paragraph [0018]), including mutated Fc domains (including mutated Fc domains; paragraph [0019]), to affect intermolecular Fc:Fc interactions (to affect intermolecular Fc:Fc interactions; paragraph [0333]); and multispecific antibodies (multispecific antibodies; paragraph [0141]); including antibodies which bind to CD38 (including antibodies which bind to CD38; paragraph [0247]); for use as a medicament for the treatment of diseases or disorders (for use as a medicament for the treatment of diseases or disorders; paragraph [0524]).

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have modified the disclosure of Momenta to have used the antibodies including antibodies which bind to CD38, wherein the antibodies include mutated Fc domains to enhance CDC activity, as disclosed by Genmab, to produce multimeric antigen-binding Fc constructs, as disclosed by Momenta, useful for the treatment of diseases or disorders.

Since none of the special technical features of the Groups I+ and II-V inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Momenta, Gliknik, Bosques, and Genmab references, unity of invention is lacking.

Claim 177 objected to under PCT Rule 66.2(a)(iii) as containing the following defect(s) in the form or contents thereof: there is no Claim enumerated as 177 in the application.

Claims 377-380 are objected to under PCT Rule 66.2(a)(v) as lacking clarity under PCT Article 6 because claims 377-380 are indefinite for the following reason(s): the claims each lack antecedent basis for dependency from Claim 202. In particular, in the context of Claim 202 as an antecedent, none of the additional restrictions of any of Claims 377-380 make logical sense, or are even possible. Claim 202 comprises a construct comprising a first polypeptide comprising a first and second Fc monomer joined by a linker, a second polypeptide comprising a third Fc domain, and a third polypeptide comprising a fourth Fc domain. As such, the restriction of claim 377, wherein the first and second polypeptides are identical, is not possible. The restriction of Claim 378, wherein the third and fourth polypeptides are identical, refers to a fourth polypeptide, which is not present in Claim 202. Claims 379 and 380 also refer to polypeptides which are not present in Claim 202. As such, Claims 377-380 have each been considered to depend from the immediately proximal Claim 376, which includes the appropriate antecedents.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I	テーマコード (参考)		
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15		
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19		
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21		
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10		
C 1 2 N	5/02	(2006.01)	C 1 2 N	5/02		
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06		
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02		
A 6 1 P	7/00	(2006.01)	A 6 1 P	7/00		
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/00		
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/00		
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00		
A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	21/04		
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00		
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00		
A 6 1 P	25/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/02	1 0 1	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12		
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P	7/06		
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00		
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04		
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02		
A 6 1 P	27/04	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 P	27/04		
			A 6 1 K	39/395	N	

(31)優先権主張番号 62/744,067

(32)優先日 平成30年10月10日(2018.10.10)

(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, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, 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, NE, 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, KG, 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, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(74)代理人 100104282

弁理士 鈴木 康仁

(72)発明者 マニング アンソニー

アメリカ合衆国 0 2 1 4 2 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビニー ストリート 3 0 1

(72)発明者 チョードウリー アミット

アメリカ合衆国 0 2 1 4 2 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビニー ストリート 3 0 1

(72)発明者 オルティス ダニエル

アメリカ合衆国 0 2 1 4 2 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビニー ストリート 3 0 1

(72)発明者 ランシング ジョナサン シー.

アメリカ合衆国 0 2 1 4 2 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビニー ストリート 3 0 1

Fターム(参考) 4B064 AG26 AG27 CA19 CC24 CE11 CE12 DA01

4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 BB40 CA25 CA44

4C085 AA14 BB11 BB36 BB42 DD62 EE01

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 DA75 DA76 EA20 FA72 FA74

GA23 GA26