



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2635607 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2020.01.27
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.09.04
(86)	European Application Nr.	11837370.3
(86)	European Filing Date	2011.11.04
(87)	The European Application's Publication Date	2013.09.11
(30)	Priority	2010.11.05, US, 201061410746 P 2010.12.21, US, 201061425375 P 2011.02.03, US, 201161439341 P 2011.04.14, US, 201161475614 P 2011.05.31, US, 201161491846 P 2011.06.16, US, 201161497861 P
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Zymeworks Inc., 540-1385 West 8th Avenue, Vancouver, British Columbia V6H 3V9, Canada
(72)	Inventor	CABRERA, Eric Escobar, 8562 Woodridge Place, BurnabyBritish Columbia V5A 4B3, Canada VON KREUDENSTEIN, Thomas Spreter, 1007 - 1330 Hardwood Street, VancouverBritish Columbia V6E 1S8, Canada DIXIT, Surjit Bhimarao, 11251 Clipper Court, RichmondBritish Columbia V7E 4M3, Canada LARIO, Paula Irene, 201 - 2080 E. Kent Avenue South, VancouverBritish Columbia V5P 4X2, Canada POON, David Kai Yuen, 8471 Heather Street, RichmondBritish Columbia V6Y 2R3, Canada D'ANGELO, Igor Edmondo Paolo, 1063 Sugar Mountain Way, Anmore British Columbia V3H 4Y7, Canada
(74)	Agent or Attorney	Orsnes Patent ApS, Forskerparken 10, 5230 ODENSE, Danmark

(54)	Title	STABLE HETERODIMERIC ANTIBODY DESIGN WITH MUTATIONS IN THE FC DOMAIN
(56)	References Cited:	US-A- 5 731 168 WO-A2-2007/110205 WO-A1-2010/115553 WO-A1-2009/089004 WO-A1-2011/143545 WO-A1-2011/028952 EP-A1- 1 870 459 DALL'ACQUA WILLIAM ET AL: "Contribution of domain interface residues to the stability of antibody CH3 domain homodimers", BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 37, no. 26, 30 June 1998 (1998-06-30) , pages 9266-9273, XP002245748, ISSN: 0006-2960, DOI: 10.1021/BI980270I RIDGWAY J.B.B. ET AL.: "Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization' PROTEIN ENGINEERING vol. 9, no. 7, July 1996, pages 617 - 621, XP002084766 MERCHANT A.M. ET AL.: 'An efficient route to human bispecific IgG' NATURE BIOTECHNOLOGY vol. 16, no. 7, 16 July 1998, pages 677 - 681, XP002141015 GUNASEKARAN K. ET AL.: 'Enhancing Antibody Fc Heterodimer Formation through Electrostatic Steering Effects' J. BIOL. CHEM. vol. 285, no. 25, 18 June 2010, pages 19637 - 19646, XP055001947 DAVIS J.H. ET AL.: 'SEEDbodies: fusion proteins based on strand-exchange engineered domain (SEED) CH3 heterodimers in an Fc analogue platform for asymmetric binders or immunofusions and bispecific antibodies' PROTEIN ENGINEERING, DESIGN & SELECTION vol. 23, no. 4, 04 February 2010, pages 195 - 202, XP055018770 THOMAS SPRETER VON KREUDENSTEIN ET AL: "Protein engineering and the use of molecular modeling and simulation: The case of heterodimeric Fc engineering", METHODS, vol. 65, no. 1, 1 January 2014 (2014-01-01), pages 77-94, XP055105140, ISSN: 1046-2023, DOI: 10.1016/j.ymeth.2013.10.016 R. JEREMY WOODS ET AL: "LC-MS characterization and purity assessment of a prototype bispecific antibody", MABS, vol. 5, no. 5, 1 September 2013 (2013-09-01), pages 711-722, XP055105145, ISSN: 1942-0862, DOI: 10.4161/mabs.25488 ATWELL S. ET AL.: 'Stable Heterodimers from Remodeling the Domain Interface of a Homodimer using a Pliage Display Library' J. MOL. BIOL. vol. 270, 04 July 1997, pages 26 - 35, XP004453749

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

Patentkrav

1. Isolert heteromultimer omfattende en human IgG Fc-heteromerregion, hvori Fc-heterodimerregionen omfatter et varierende CH3-domene omfattende aminosyresubstitusjoner som fremmer dannelsen av Fc-heterodimerregionen, hvori Fc-heterodimerregionen har en renhet på mer enn 90 %, hvori det varierende CH3-domenet har en smeltetemperatur (T_m) på 72 °C eller høyere, hvori:
 - (a) et første CH3-domenepolypeptid omfatter aminosyresubstitusjonene F405A og Y407V, og et andre CH3-domenepolypeptid omfatter aminosyresubstitusjonene T394W og én av T366I eller T366L, eller
 - (b) et første CH3-domenepolypeptid omfatter en aminosyresubstitusjon i posisjon F405 og aminosyresubstitusjonene L351Y og Y407V, og et andre CH3-domenepolypeptid omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, hvori aminosyresubstitusjonen i posisjon F405 er F405A, F405I, F405M, F405T, F405S, F405V eller F405W, eller
 - (c) et første CH3-domenepolypeptid omfatter aminosyresubstitusjonene i posisjonene L351 og Y407, og et andre CH3-domenepolypeptid omfatter en aminosyresubstitusjon i posisjon T366 og aminosyresubstitusjonen K409F, hvori aminosyresubstitusjonen i posisjon L351 er L351Y, L351I, L351D, L351R eller L351F; aminosyresubstitusjonen i posisjon Y407 er Y407A, Y407V eller Y407S, og aminosyresubstitusjonen i posisjon T366 er T366A, T366I, T366L, T366M, T366Y, T366S, T366C, T366V eller T366W, og hvori nummereringen av aminosyrerestene er i henhold til EU-indeksen som angitt i Kabat.
2. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1, hvori Fc-heterodimerregionen har en renhet på 95 % eller mer; fortrinnsvis hvori Fc-heterodimerregionen fortrinnsvis har en renhet på 98 % eller mer.
3. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1 eller 2, hvori T_m er 74 °C eller høyere.
4. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1(a), hvori det første CH3-domenepolypeptidet videre omfatter aminosyresubstitusjonen L351Y eller L351L, og/eller det andre CH3-domenepolypeptidet videre omfatter aminosyresubstitusjonen K392F, K392L eller

K392M.

5. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1(a) eller 4, hvori det andre CH3-domenepolypeptidet videre omfatter aminosyresubstitusjonen K392M.
6. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1(b), hvori aminosyresubstitusjonen i posisjon F405 er F405A.
7. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 6, hvori det andre CH3-domenepolypeptidet videre omfatter aminosyresubstitusjonen T366I eller T366L.
8. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 7, hvori det andre CH3-domenepolypeptidet videre omfatter aminosyresubstitusjonen K392M.
9. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1(b), hvori det første eller andre CH3-domenepolypeptidet videre omfatter en aminosyresubstitusjon i én eller flere av posisjonene K392, T411, T366, L368 eller S400 og hvori:
 aminosyresubstitusjonen i posisjon K392 er K392V, K392M, K392R, K392L, K392F eller K392E;
 aminosyresubstitusjonen i posisjon T411 er T411N, T411R, T411Q, T411K, T411D, T411E eller T411W;
 aminosyresubstitusjonen i posisjon T366 er T366A, T366I, T366L, T366M, T366Y, T366S, T366C, T366V eller T366W;
 aminosyresubstitusjonen i posisjon L368 er L368D, L368R, L368T, L368M, L368V, L368F, L368S eller L368A, og
 aminosyresubstitusjonen i posisjon S400 er S400E, S400D, S400R eller S400K.
10. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1(b), hvori:
 - (a) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405A og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392F; eller
 - (b) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405S og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392L; eller

- (c) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405S og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392M; eller
- (d) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405S og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392F; eller
- (e) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405T og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392L; eller
- (f) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405T og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392M; eller
- (g) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405T og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392F; eller
- (h) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405V og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392L; eller
- (i) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405V og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392M; eller
- (j) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405V og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og K392F; eller
- (k) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405A og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonen T366I; eller
- (l) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405A og Y407V, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366I og K392M; eller
- (m) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y, F405A og Y407V, og videre omfatter aminosyresubstitusjonen S400E, og det andre CH3-

domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonen T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene T366I, N390R og K392M.

11. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1(a), hvori:

(a) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene F405A og Y407V, og videre omfatter aminosyresubstitusjonen L351Y, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonen K392L; eller

(b) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene F405A og Y407V, og videre omfatter aminosyresubstitusjonen L351Y, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonen K392M; eller

(c) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene F405A og Y407V, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y og S400E, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene N390R og K392L; eller

(d) det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene F405A og Y407V, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y og S400E, og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene T366L og T394W, og videre omfatter aminosyresubstitusjonene N390R og K392M.

12. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1(c), hvori aminosyresubstitusjonen i posisjon Y407 er Y407A.

13. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 12, hvori aminosyresubstitusjonen i posisjon L351 er L351Y.

14. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 12 eller 13, hvori aminosyresubstitusjonen i posisjon T366 er T366A, T366I, T366M eller T366V.

15. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 1(c), hvori det første CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene L351Y og Y407A og det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter aminosyresubstitusjonene K409F og T366A, og hvori det første

CH3-domenepolypeptidet eller det andre CH3-domenepolypeptidet omfatter en ytterligere aminosyresubstitusjon i én eller flere av posisjonene T411, D399, S400, F405, N390 eller K392, og hvori:

aminosyresubstitusjonen i posisjon T411 er T411N, T411R, T411Q, T411K, T411D, T411E eller T411W;

aminosyresubstitusjonen i posisjon D399 er D399R, D399W, D399Y eller D399K;

aminosyresubstitusjonen i posisjon S400 er S400E, S400D, S400R eller S400K;

aminosyresubstitusjonen i posisjon F405 er F405I, F405M, F405T, F405S, F405V eller F405W;

aminosyresubstitusjonen i posisjon N390 er N390R, N390K eller N390D, og

aminosyresubstitusjonen i posisjon K392 er K392V, K392M, K392R, K392L, K392F eller K392E.

16. Den isolerte heteromultimeren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 15, hvori IgG Fc-regionen er en IgG1 Fc-region.

17. Den isolerte heteromultimeren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 16, hvori heteromultimeren er et antistoff.

18. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 17, hvori antistoffet er et bispesifikt eller multispesifikt antistoff.

19. Den isolerte heteromultimeren ifølge krav 17 eller 18, hvori antistoffet binder minst ett kreftantigen.

20. Den isolerte heteromultimeren ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 19, hvori antistoffet konjugeres til et terapeutisk middel.

21. Den isolerte heteromultimeren ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 20 for anvendelse i behandling av kreft hos en pasient som har behov derav.

22. *In vitro*-fremgangsmåte for uttrykking av antistoffet ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 19, hvori det første og andre CH3-domenepolypeptidet samuttrykkes fra en enkelt pattedyr-celle.