【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第３部門第２区分
【発行日】平成29年11月2日(2017.11.2)

【公表番号】特表2016-534985(P2016-534985A)
【公表日】平成28年11月10日(2016.11.10)
【年通号数】公開・登録公報2016-063
【出願番号】特願2016-520651(P2016-520651)
【国際特許分類】
Ｃ０７Ｋ　14/21　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　16/46　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　 1/15　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　 1/19　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　 1/21　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　 5/10　(2006.01)
Ｃ１２Ｐ　21/00　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　38/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　35/00　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　39/395　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　48/00　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　35/12　(2015.01)
【ＦＩ】
Ｃ０７Ｋ　14/21　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ０７Ｋ　16/46
Ｃ１２Ｎ　 1/15
Ｃ１２Ｎ　 1/19
Ｃ１２Ｎ　 1/21
Ｃ１２Ｎ　 5/10
Ｃ１２Ｐ　21/00　Ｃ
Ａ６１Ｋ　37/02
Ａ６１Ｐ　35/00
Ａ６１Ｋ　39/395　Ｎ
Ａ６１Ｋ　48/00
Ａ６１Ｋ　35/12

【手続補正書】
【提出日】平成29年9月15日(2017.9.15)
【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】
シュードモナス外毒素A(Pseudomonas exotoxin A、PE)のアミノ酸配列を含むPEであって、ここで配列番号:1の参照により定義されるアミノ酸残基F443、R456、L477、R494及びL552の1又は複数が独立に置換されており、ここで、該PEが、任意に以下を有する、前記シュードモナス外毒素A:

(i)1又は複数のB細胞エピトープにおける1又は複数のアミノ酸残基のさらなる置換であって、該1又は複数のB細胞エピトープにおけるアミノ酸のさらなる置換が、独立に、配列番号:1の参照により定義されるアミノ酸残基D403、D406、R412、R427、E431、R432、D461、R463、R467、R490、R505、R513、E522、R538、E548、R551、R576、Q592及びL597の1又は複数の置換である、置換、

(ii)1又は複数のT細胞エピトープにおける1又は複数のアミノ酸残基のさらなる置換、

(iii)配列番号:1により定義される残基1-273及び残基285-394の1又は複数の連続するアミノ酸残基の欠失、又は、

(iv)(i)から(iii)のいずれか1つ、2つ、又は3つの組み合わせ。

【請求項２】

以下の式の配列を含む、単離された変異シュードモナス外毒素A(PE):

$R^1{}_n$-FCS-$R^2{}_n$-$R^3{}_n$-PE機能性ドメインIII

ここで、

R^1、R^2及びR^3のそれぞれについて独立にn=0又は1であり、

R^1=1から10アミノ酸残基であり、

FCS=フューリンによって切断可能で、アミノ末端及びカルボキシル末端を有する配列である、フューリン切断配列のアミノ酸残基であり、

R^2=1から10アミノ酸残基であり、

R^3=配列番号:1の残基365-394の、1又は複数の連続した残基であり、及び、

PE機能性ドメインIII=配列番号:1の残基395-613であり、ここで、配列番号:1の参照により定義されるアミノ酸残基F443、R456、L477、R494及びL552の1又は複数が、独立に置換されており、ここで、該PEが任意に以下を有する:

(i)1又は複数のB細胞エピトープにおける1又は複数のアミノ酸残基のさらなる置換であって、該1又は複数のB細胞エピトープにおけるアミノ酸のさらなる置換が、独立に、配列番号:1の参照により定義されるアミノ酸残基D403、D406、R412、R427、E431、R432、D461、R463、R467、R490、R505、R513、E522、R538、E548、R551、R576、Q592及びL597の1又は複数の置換である、置換、

(ii)1又は複数のT細胞エピトープにおける1又は複数のアミノ酸残基のさらなる置換、又は、

(iii)(i)及び(ii)の両方。

【請求項３】

さらに前記FCSが、式P4-P3-P2-P1によって表され、ここで、P4はアミノ末端のアミノ酸残基であり、P1はカルボキシル末端のアミノ酸残基であり、P1はアルギニン又はリジン残基であり、当該配列はP1のカルボキシル末端でフューリンにより切断可能である、請求項2記載の変異PE。

【請求項４】

さらに前記FCSが、(i)P6-P5によって表されるアミノ酸残基をアミノ末端にさらに含み、(ii)P1’-P2’によって表されるアミノ酸残基をカルボキシル末端にさらに含み、(iii)ここで、P1がアルギニン又はリジン残基であり、P2’がトリプトファンであり、かつP4がアルギニン、バリン又はリジンである場合、P4がアルギニンでないという条件で、P6及びP2は塩基性残基であり、及び(iv)当該配列がP1のカルボキシル末端でフューリンにより切断可能である、請求項3記載の変異PE。

【請求項５】

さらに前記PE機能性ドメインIIIが、配列番号:1の残基395-613の配列からなる、請求項2～4のいずれか一項記載の変異PE。

【請求項６】

前記変異PEが、FCS及びPEドメインIIIの間に配列番号:1の残基365-394の1又は複数の連続する残基を含む、請求項2～5のいずれか一項記載の変異PE。

【請求項７】

R^1及びR^2についてnが1である、請求項2～6のいずれか一項記載の変異PE。
【請求項８】
前記FCSが配列番号:8である、請求項2～7のいずれか一項記載の変異PE。
【請求項９】
R^1=配列番号:282のアミノ酸配列のリンカーであり、R^2=配列番号:284のアミノ酸配列のリンカーであり、及び、前記FCS=配列番号:8である、請求項2～8のいずれか一項記載の変異PE。
【請求項１０】
R^3についてnが0である、請求項2～9のいずれか一項記載の変異PE。
【請求項１１】
PE機能的ドメインIIIが配列番号:37のアミノ酸配列を含む、請求項2～10のいずれか一項記載の変異PE。
【請求項１２】
$R^1{}_n$-FCS-$R^2{}_n$=配列番号:36である、請求項2～11のいずれか一項記載の変異PE。
【請求項１３】
アミノ酸残基F443、R456、L477、R494及びL552の1又は複数の置換が、独立に、アミノ酸残基F443、R456、L477、R494及びL552の1又は複数におけるアラニン、グルタミン酸、ヒスチジン、又はアスパラギンへの置換である、請求項1～12のいずれか一項記載のPE。
【請求項１４】
L552の置換が、L552におけるグルタミン酸又はアスパラギンへの置換であり、かつ、L477の置換が、L477におけるヒスチジンへの置換である、請求項1～13のいずれか一項記載のPE。
【請求項１５】
1又は複数のB細胞エピトープにおけるアミノ酸のさらなる置換が、独立に、配列番号:1の参照により定義される、アミノ酸残基E282、E285、P290、R313、N314、P319、D324、E327、E331、Q332、D403、D406、R412、R427、E431、R432、D461、R463、R467、R490、R505、R513、E522、R538、E548、R551、R576、K590、Q592及びL597の1又は複数におけるアラニン、グリシン、セリン又はグルタミンへの置換である、請求項1～14のいずれか一項記載のPE。
【請求項１６】
前記PEが、1又は複数のT細胞エピトープにおけるアミノ酸のさらなる置換を有し、かつ該1又は複数のT細胞エピトープにおけるアミノ酸のさらなる置換が、独立に、配列番号:1の参照により定義される、アミノ酸残基R421、L422、L423、A425、R427、L429、Y439、H440、F443、L444、A446、A447、I450、463-519、R551、L552、T554、I555、L556及びW558の1又は複数におけるアラニン、グリシン、セリン又はグルタミンへの置換である、請求項1～15のいずれか一項記載のPE。
【請求項１７】
配列番号:1の参照により定義される、アミノ酸残基F443、R456、L477、R494及びL552の1又は複数の置換が、アミノ酸残基F443におけるアラニンへの置換;アミノ酸残基R456におけるアラニンへの置換;アミノ酸残基L477におけるヒスチジンへの置換;アミノ酸残基R494におけるアラニンへの置換;及び、アミノ酸残基L552におけるグルタミン酸への置換であり、前記PEが位置458でアルギニン残基を有し、かつ、1又は複数のB細胞エピトープにおけるアミノ酸のさらなる置換が以下である、請求項1～16のいずれか一項記載のPE:
(a)アミノ酸残基R427に対するアラニンへの置換;
(b)アミノ酸残基R463に対するアラニンへの置換;
(c)アミノ酸残基R467に対するアラニンへの置換;
(d)アミノ酸残基R490に対するアラニンへの置換;
(e)アミノ酸残基R505に対するアラニンへの置換;及び、
(f)アミノ酸残基R538に対するアラニンへの置換。
【請求項１８】

配列番号:1の参照により定義される、アミノ酸残基F443、R456、L477、R494及びL552の1又は複数の置換が、アミノ酸残基R456におけるアラニンへの置換であり、前記PEが位置458でアルギニン残基を有し、かつ、1又は複数のB細胞エピトープにおけるアミノ酸のさらなる置換が以下である、請求項1～16のいずれか一項記載のPE:

(a)アミノ酸残基R427に対するアラニンへの置換;

(b)アミノ酸残基R463に対するアラニンへの置換;

(c)アミノ酸残基R467に対するアラニンへの置換;

(d)アミノ酸残基R490に対するアラニンへの置換;

(e)アミノ酸残基R505に対するアラニンへの置換;及び、

(f)アミノ酸残基R538に対するアラニンへの置換。

【請求項１９】

配列番号:1の参照により定義される、アミノ酸残基F443、R456、L477、R494及びL552の1又は複数の置換が、アミノ酸残基F443におけるアラニンへの置換;アミノ酸残基R456におけるアラニンへの置換;アミノ酸残基L477におけるヒスチジンへの置換;アミノ酸残基R494におけるアラニンへの置換;及び、アミノ酸残基L552におけるアスパラギンへの置換であり、前記PEが位置458でアルギニン残基を有し、かつ、1又は複数のB細胞エピトープにおけるアミノ酸のさらなる置換が以下である、請求項1～16のいずれか一項記載のPE:

(a)アミノ酸残基R427に対するアラニンへの置換;

(b)アミノ酸残基R463に対するアラニンへの置換;

(c)アミノ酸残基R467に対するアラニンへの置換;

(d)アミノ酸残基R490に対するアラニンへの置換;

(e)アミノ酸残基R505に対するアラニンへの置換;及び、

(f)アミノ酸残基R538に対するアラニンへの置換。

【請求項２０】

配列番号:1の参照により定義される、アミノ酸残基F443、L477、R494及びL552の1又は複数が独立に置換されている、請求項2記載の変異PE。

【請求項２１】

アミノ酸残基F443、L477、R494及びL552の1又は複数の置換が、アミノ酸残基F443におけるアラニンへの置換、アミノ酸残基L477におけるヒスチジンへの置換、アミノ酸残基R494におけるアラニンへの置換及びアミノ酸残基L552におけるグルタミン酸又はアスパラギンへの置換である、請求項20記載の変異PE。

【請求項２２】

以下の式の配列を含む、単離された、変異シュードモナス外毒素A(PE):

R^1_n-FCS-R^2_n-R^3_n-PE機能性ドメインIII

ここで、

R^1、R^2及びR^3のそれぞれについて独立にn=0又は1であり、

R^1=1から10アミノ酸残基であり、

FCS=フューリンによって切断可能で、アミノ末端及びカルボキシル末端を有する配列である、フューリン切断配列のアミノ酸残基であり、

R^2=1から10アミノ酸残基であり、

R^3=配列番号:1の残基365～394の、1又は複数の連続した残基であり、及び、

PE機能性ドメインIII=配列番号:1の残基395～613であり、ここで、前記PEが配列番号:1の参照により定義される位置458でアルギニンを含み、及び、

ここで、前記PEが、以下を有する:

(a)アミノ酸残基R427に対するアラニンへの置換;

(b)アミノ酸残基R463に対するアラニンへの置換;

(c)アミノ酸残基R467に対するアラニンへの置換;

(d)アミノ酸残基R490に対するアラニンへの置換;

(e)アミノ酸残基R505に対するアラニンへの置換;及び

(f)アミノ酸残基R538に対するアラニンへの置換。

【請求項２３】
(b)請求項1～22のいずれか一項記載のPEに結合又は融合された(a)標的指向化部分を含む、キメラ分子。
【請求項２４】
前記標的指向化部分が、モノクローナル抗体又は該モノクローナル抗体の抗原結合部分である、請求項23記載のキメラ分子。
【請求項２５】
前記モノクローナル抗体又は前記モノクローナル抗体の抗原結合部分が、以下からなる群から選択される細胞表面マーカーに特異的に結合する、請求項24記載のキメラ分子:CD19、CD21、CD22、CD25、CD30、CD79b、トランスフェリンレセプター、上皮成長因子(EGF)レセプター、メソテリン、カドヘリン、ルイスY、グリピカン-3、FAP(繊維芽細胞活性化タンパク質α)、PSMA(前立腺特異的膜抗原)、CA9 = CAIX(炭酸脱水酵素IX)、L1CAM(神経細胞接着分子L1)、エンドシアリン、HER3(上皮成長因子レセプターファミリーメンバー3の活性化形態)、Alk1/BMP9複合体(未分化リンパ腫キナーゼ1/骨形成タンパク質9)、TPBG = 5T4(栄養芽層糖タンパク質)、CD33(シアル酸結合免疫グロブリン様レクチン3、骨髄系細胞表面抗原)、CD123(インターロイキン3レセプターα)、MUC1(腫瘍関連上皮性ムチン)、ROR1(レセプターチロシンキナーゼ様表面抗原)、HER1(上皮成長因子レセプターの活性化形態)、及びCLL1(C型レクチンドメインファミリー12、メンバーA)。
【請求項２６】
前記標的指向化部分が、B3、RFB4、SS、SS1、MN、MB、HN1、HN2、HB21、MORAb-009、それらの抗原結合部分及びHA22の抗原結合部分からなる群から選択される、請求項23記載のキメラ分子。
【請求項２７】
標的指向化部分が、ヒト化SS1又は該ヒト化SS1の抗原結合部分である、請求項23記載のキメラ分子。
【請求項２８】
前記標的指向化部分が以下を含む、請求項23記載のキメラ分子:
(a)配列番号:31及び34;
(b)配列番号:45及び46;
(c)配列番号:61及び62;
(d)配列番号:77及び78;
(e)配列番号:93及び94;
(f)配列番号:109及び110;
(g)配列番号:125及び126;
(h)配列番号:141及び142;
(i)配列番号:157及び158;
(j)配列番号:173及び174;
(k)配列番号:49、50、53、54、57及び58;
(l)配列番号:65、66、69、70、73及び74;
(m)配列番号:81、82、85、86、89及び90;
(n)配列番号:97、98、101、102、105及び106;
(o)配列番号:113、114、117、118、121及び122;
(p)配列番号:129、130、133、134、137及び138;
(q)配列番号:145、146、149、150、153及び154;
(r)配列番号:161、162、165、166、169及び170;
(s)配列番号:177、178、181、182、185及び186;
(t)配列番号:31-32及び34-36;
(u)配列番号:33及び38;又は、
(v)配列番号:93及び290。
【請求項２９】

前記キメラ分子が、配列番号:36を含むリンカーを含む、請求項23～28のいずれか一項記載のキメラ分子。

【請求項３０】

以下を含む、請求項23～28のいずれか一項記載のキメラ分子:

(a)配列番号:39及び40;

(b)配列番号:41及び42;

(c)配列番号:43及び44;

(d)配列番号:291及び293;

(e)配列番号:291及び294;

(f)配列番号:292及び294;

(g)配列番号:295及び297;又は

(h)配列番号:296及び297。

【請求項３１】

請求項1～22のいずれか一項記載のPE又は請求項23～30のいずれか一項記載のキメラ分子をコードするヌクレオチド配列を含む、核酸。

【請求項３２】

請求項31記載の核酸を含む、組換え発現ベクター。

【請求項３３】

請求項32記載の組換え発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項３４】

請求項33記載の宿主細胞の少なくとも1つを含む、細胞集団。

【請求項３５】

(a)請求項1～22のいずれか一項記載のPE、請求項23～30のいずれか一項記載のキメラ分子、請求項31記載の核酸、請求項32記載の組換え発現ベクター、請求項33記載の宿主細胞又は請求項34記載の細胞集団、及び（b）薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

【請求項３６】

請求項1～22のいずれか一項記載のPE、請求項23～30のいずれか一項記載のキメラ分子、請求項31記載の核酸、請求項32記載の組換え発現ベクター、請求項33記載の宿主細胞、請求項34記載の細胞集団又は請求項35記載の薬学的組成物を含む、哺乳動物における癌を治療又は予防するための組成物。

【請求項３７】

請求項1～22のいずれか一項記載のPE、請求項23～30のいずれか一項記載のキメラ分子、請求項31記載の核酸、請求項32記載の組換え発現ベクター、請求項33記載の宿主細胞、請求項34記載の細胞集団又は請求項35記載の薬学的組成物を含む、標的細胞の成長を阻害するための組成物。

【請求項３８】

前記標的細胞が癌細胞である、請求項37記載の組成物。

【請求項３９】

標的細胞が、以下からなる群から選択される細胞表面マーカーを発現する、請求項37記載の組成物:CD19、CD21、CD22、CD25、CD30、CD79b、トランスフェリンレセプター、EGFレセプター、メソテリン、カドヘリン、ルイスY、グリピカン-3、FAP(繊維芽細胞活性化タンパク質α)、PSMA(前立腺特異的膜抗原)、CA9 = CAIX(炭酸脱水酵素IX)、L1CAM(神経細胞接着分子L1)、エンドシアリン、HER3(上皮成長因子レセプターファミリーメンバー3の活性化形態)、Alk1/BMP9複合体(未分化リンパ腫キナーゼ1/骨形成タンパク質9)、TPBG = 5T4(栄養芽層糖タンパク質)、CD33(シアル酸結合免疫グロブリン様レクチン3、骨髄系細胞表面抗原)、CD123(インターロイキン3レセプターα)、MUC1(腫瘍関連上皮性ムチン)、ROR1(レセプターチロシンキナーゼ様表面抗原)、HER1(上皮成長因子レセプターの活性化形態)、及びCLL1(C型レクチンドメインファミリー12、メンバーA)。

【請求項４０】

(a)前記PEを組換え発現させる工程、及び(b)前記PEを精製する工程を含む、請求項1～22のいずれか一項記載のPEを製造する方法。

【請求項４１】

(a)前記キメラ分子を組換え発現させる工程、及び(b)前記キメラ分子を精製する工程を含む、請求項23～30のいずれか一項記載のキメラ分子を製造する方法。

【請求項４２】

(a)請求項1～22のいずれか一項記載のPEを組換え的に発現させる工程、(b)前記PEを精製する工程、及び(c)該精製されたPEに対して標的指向化部分を共有結合させる工程を含む、請求項23～30のいずれか一項記載のキメラ分子を製造する方法。