

【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1部門第1区分
 【発行日】令和5年7月10日(2023.7.10)

【国際公開番号】WO2021/003469
 【公表番号】特表2022-538894(P2022-538894A)
 【公表日】令和4年9月6日(2022.9.6)
 【年通号数】公開公報(特許)2022-164
 【出願番号】特願2021-578065(P2021-578065)

【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/56(2006.01)

C 1 2 N 9/24(2006.01)

C 0 7 K 19/00(2006.01)

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 1/15(2006.01)

C 1 2 N 1/19(2006.01)

C 1 2 N 1/21(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

20

A 6 1 K 38/47(2006.01)

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 K 47/68(2017.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 P 35/02(2006.01)

A 6 1 P 35/04(2006.01)

C 0 7 K 16/00(2006.01)

C 0 7 K 16/46(2006.01)

C 0 7 K 16/28(2006.01)

【F I】

30

C 1 2 N 15/56

C 1 2 N 9/24 Z N A

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

40

A 6 1 K 38/47

A 6 1 K 39/395 Y

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 K 47/68

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 35/04

C 0 7 K 16/00

C 0 7 K 16/46

C 0 7 K 16/28

50

【手続補正書】

【提出日】令和5年6月30日(2023.6.30)

【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】

10

シアリダーゼが：

- (a)野生型ヒトNeu2の62位に対応する位置でのプロリン残基の置換(P62);
 - (b)野生型ヒトNeu2の93位に対応する位置でのアラニン残基の置換(A93);
 - (c)野生型ヒトNeu2の126位に対応する位置でのグルタミン残基の置換(Q126);
 - (d)野生型ヒトNeu2の242位に対応する位置でのアラニン残基の置換(A242);もしくは
 - (e)野生型ヒトNeu2の270位に対応する位置でのグルタミン残基の置換(Q270)
- または前述の置換のいずれかの組合せを含む、組換え変異体ヒトシアリダーゼ酵素。

【請求項2】

シアリダーゼが：

20

- (a)野生型ヒトNeu2の5位に対応する位置でのプロリン残基の置換(P5);
- (b)野生型ヒトNeu2の9位に対応する位置でのリジン残基の置換(K9);
- (c)野生型ヒトNeu2の44位に対応する位置でのリジン残基の置換(K44);
- (d)野生型ヒトNeu2の45位に対応する位置でのリジン残基の置換(K45);
- (e)野生型ヒトNeu2の54位に対応する位置でのロイシン残基の置換(L54);
- (f)野生型ヒトNeu2の69位に対応する位置でのグルタミン残基の置換(Q69);
- (g)野生型ヒトNeu2の78位に対応する位置でのアルギニン残基の置換(R78);
- (h)野生型ヒトNeu2の80位に対応する位置でのアスパラギン酸残基の置換(D80);
- (i)野生型ヒトNeu2の107位に対応する位置でのグリシン残基の置換(G107);
- (j)野生型ヒトNeu2の108位に対応する位置でのグルタミン残基の置換(Q108);
- (k)野生型ヒトNeu2の112位に対応する位置でのグルタミン残基の置換(Q112);
- (l)野生型ヒトNeu2の125位に対応する位置でのシステイン残基の置換(C125);
- (m)野生型ヒトNeu2の150位に対応する位置でのアラニン残基の置換(A150);
- (n)野生型ヒトNeu2の164位に対応する位置でのシステイン残基の置換(C164);
- (o)野生型ヒトNeu2の170位に対応する位置でのアルギニン残基の置換(R170);
- (p)野生型ヒトNeu2の171位に対応する位置でのアラニン残基の置換(A171);
- (q)野生型ヒトNeu2の188位に対応する位置でのグルタミン残基の置換(Q188);
- (r)野生型ヒトNeu2の189位に対応する位置でのアルギニン残基の置換(R189);
- (s)野生型ヒトNeu2の213位に対応する位置でのアラニン残基の置換(A213);
- (t)野生型ヒトNeu2の217位に対応する位置でのロイシン残基の置換(L217);
- (u)野生型ヒトNeu2の225位に対応する位置でのグルタミン酸残基の置換(E225);
- (v)野生型ヒトNeu2の239位に対応する位置でのヒスチジン残基の置換(H239);
- (w)野生型ヒトNeu2の240位に対応する位置でのロイシン残基の置換(L240);
- (x)野生型ヒトNeu2の241位に対応する位置でのアルギニン残基の置換(R241);
- (y)野生型ヒトNeu2の244位に対応する位置でのバリン残基の置換(V244);
- (z)野生型ヒトNeu2の249位に対応する位置でのトレオニン残基の置換(T249);
- (aa)野生型ヒトNeu2の251位に対応する位置でのアスパラギン酸残基の置換(D251);
- (bb)野生型ヒトNeu2の257位に対応する位置でのグルタミン酸残基の置換(E257);
- (cc)野生型ヒトNeu2の258位に対応する位置でのセリン残基の置換(S258);
- (dd)野生型ヒトNeu2の260位に対応する位置でのロイシン残基の置換(L260);

30

40

50

(ee)野生型ヒトNeu2の265位に対応する位置でのバリン残基の置換(V265);
 (ff)野生型ヒトNeu2の292位に対応する位置でのトリプトファン残基の置換(W292);
 (gg)野生型ヒトNeu2の301位に対応する位置でのセリン残基の置換(S301);
 (hh)野生型ヒトNeu2の302位に対応する位置でのトリプトファン残基の置換(W302);
 (ii)野生型ヒトNeu2の363位に対応する位置でのバリン残基の置換(V363);もしくは
 (jj)野生型ヒトNeu2の365位に対応する位置でのロイシン残基の置換(L365);
 または前述の置換のいずれかの組合せ
 をさらに含む、請求項1記載のシアリダーゼ。

【請求項3】

P62およびA93の置換を含む、請求項1または2記載のシアリダーゼ。

10

【請求項4】

P62、A93、Q126、A242およびQ270の置換を含む、請求項1～3いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項5】

シアリダーゼにおいて：

(a)野生型ヒトNeu2の62位に対応する位置でのプロリン残基はアスパラギン(P62N)、アスパラギン酸(P62D)、ヒスチジン(P62H)、グルタミン酸(P62E)、グリシン(P62G)、セリン(P62S)もしくはトレオニン(P62T)で置換され；

(b)野生型ヒトNeu2の93位に対応する位置でのアラニン残基はグルタミン酸(A93E)もしくはリジン(A93K)で置換され；

20

(c)野生型ヒトNeu2の126位に対応する位置でのグルタミン残基はロイシン(Q126L)、グルタミン酸(Q126E)、フェニルアラニン(Q126F)、ヒスチジン(Q126H)、イソロイシン(Q126I)もしくはチロシン(Q126Y)で置換され；

(d)野生型ヒトNeu2の242位に対応する位置でのアラニン残基はシステイン(A242C)、フェニルアラニン(A242F)、グリシン(A242G)、ヒスチジン(A242H)、イソロイシン(A242I)、リジン(A242K)、ロイシン(A242L)、メチオニン(A242M)、アスパラギン(A242N)、グルタミン(A242Q)、アルギニン(A242R)、セリン(A242S)、バリン(A242V)、トリプトファン(A242W)もしくはチロシン(A242Y)で置換され；または

(e)野生型ヒトNeu2の270位に対応する位置でのグルタミン残基はアラニン(Q270A)、ヒスチジン(Q270H)、フェニルアラニン(Q270F)、プロリン(Q270P)、セリン(Q270S)もしくはトレオニン(Q270T)で置換され；

30

あるいはシアリダーゼは前述の置換のいずれかの組合せを含む、請求項1～4いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項6】

シアリダーゼにおいて：

(a)野生型ヒトNeu2の5位に対応する位置でのプロリン残基はヒスチジン(P5H)で置換され；

(b)野生型ヒトNeu2の9位に対応する位置でのリジン残基はアスパラギン酸(K9D)で置換され；

(c)野生型ヒトNeu2の44位に対応する位置でのリジン残基はアルギニン(K44R)もしくはグルタミン酸(K44E)で置換され；

40

(d)野生型ヒトNeu2の45位に対応する位置でのリジン残基はアラニン(K45A)、アルギニン(K45R)もしくはグルタミン酸(K45E)で置換され；

(e)野生型ヒトNeu2の54位に対応する位置でのロイシン残基はメチオニン(L54M)で置換され；

(f)野生型ヒトNeu2の69位に対応する位置でのグルタミン残基はヒスチジン(Q69H)で置換され；

(g)野生型ヒトNeu2の78位に対応する位置でのアルギニン残基はリジン(R78K)で置換され；

(h)野生型ヒトNeu2の80位に対応する位置でのアスパラギン酸残基はプロリン(D80P)

50

で置換され；

(i)野生型ヒトNeu2の107位に対応する位置でのグリシン残基はアスパラギン酸(G107D)で置換され；

(j)野生型ヒトNeu2の108位に対応する位置でのグルタミン残基はヒスチジン(Q108H)で置換され；

(k)野生型ヒトNeu2の112位に対応する位置でのグルタミン残基はアルギニン(Q112R)もしくはリジン(Q112K)で置換され；

(l)野生型ヒトNeu2の125位に対応する位置でのシステイン残基はロイシン(C125L)で置換され；

(m)野生型ヒトNeu2の150位に対応する位置でのアラニン残基はバリン(A150V)で置換され； 10

(n)野生型ヒトNeu2の164位に対応する位置でのシステイン残基はグリシン(C164G)で置換され；

(o)野生型ヒトNeu2の170位に対応する位置でのアルギニン残基はプロリン(R170P)で置換され；

(p)野生型ヒトNeu2の171位に対応する位置でのアラニン残基はグリシン(A171G)で置換され；

(q)野生型ヒトNeu2の188位に対応する位置でのグルタミン残基はプロリン(Q188P)で置換され；

(r)野生型ヒトNeu2の189位に対応する位置でのアルギニン残基はプロリン(R189P)で置換され； 20

(s)野生型ヒトNeu2の213位に対応する位置でのアラニン残基はシステイン(A213C)、アスパラギン(A213N)、セリン(A213S)もしくはトレオニン(A213T)で置換され；

(t)野生型ヒトNeu2の217位に対応する位置でのロイシン残基はアラニン(L217A)もしくはバリン(L217V)で置換され；

(u)野生型ヒトNeu2の249位に対応する位置でのトレオニン残基はアラニン(T249A)で置換され；

(v)野生型ヒトNeu2の251位に対応する位置でのアスパラギン酸残基はグリシン(D251G)で置換され；

(w)野生型ヒトNeu2の225位に対応する位置でのグルタミン酸残基はプロリン(E225P)で置換され； 30

(x)野生型ヒトNeu2の239位に対応する位置でのヒスチジン残基はプロリン(H239P)で置換され；

(y)野生型ヒトNeu2の240位に対応する位置でのロイシン残基はアスパラギン酸(L240D)、アスパラギン(L240N)もしくはチロシン(L240Y)で置換され；

(z)野生型ヒトNeu2の241位に対応する位置でのアルギニン残基はアラニン(R241A)、アスパラギン酸(R241D)、ロイシン(R241L)、グルタミン(R241Q)もしくはチロシン(R241Y)で置換され；

(aa)野生型ヒトNeu2の244位に対応する位置でのバリン残基はイソロイシン(V244I)もしくはプロリン(V244P)で置換され； 40

(bb)野生型ヒトNeu2の257位に対応する位置でのグルタミン酸残基はプロリン(E257P)で置換され；

(cc)258位に対応する位置でのセリン残基はシステイン(S258C)で置換され；

(dd)野生型ヒトNeu2の260位に対応する位置でのロイシン残基はアスパラギン酸(L260D)、フェニルアラニン(L260F)、グルタミン(L260Q)もしくはトレオニン(L260T)で置換され；

(ee)野生型ヒトNeu2の265位に対応する位置でのバリン残基はフェニルアラニン(V265F)で置換され；

(ff)野生型ヒトNeu2の292位に対応する位置でのトリプトファン残基はアルギニン(W292R)で置換され； 50

(gg)野生型ヒトNeu2の301位に対応する位置でのセリン残基はアラニン(S301A)、アスパラギン酸(S301D)、グルタミン酸(S301E)、フェニルアラニン(S301F)、ヒスチジン(S301H)、リジン(S301K)、ロイシン(S301L)、メチオニン(S301M)、アスパラギン(S301N)、プロリン(S301P)、グルタミン(S301Q)、アルギニン(S301R)、トレオニン(S301T)、バリン(S301V)、トリプトファン(S301W)もしくはチロシン(S301Y)で置換され；

(hh)野生型ヒトNeu2の302位に対応する位置でのトリプトファン残基はアラニン(W302A)、アスパラギン酸(W302D)、フェニルアラニン(W302F)、グリシン(W302G)、ヒスチジン(W302H)、イソロイシン(W302I)、リジン(W302K)、ロイシン(W302L)、メチオニン(W302M)、アスパラギン(W302N)、プロリン(W302P)、グルタミン(W302Q)、アルギニン(W302R)、セリン(W302S)、トレオニン(W302T)、バリン(W302V)もしくはチロシン(W302Y)で置換され；

(ii)野生型ヒトNeu2の363位に対応する位置でのバリン残基はアルギニン(V363R)で置換され；または

(jj)野生型ヒトNeu2の365位に対応する位置でのロイシン残基はグルタミン(L365Q)、ヒスチジン(L365H)、イソロイシン(L365I)、リジン(L365K)もしくはセリン(L365S)で置換され；

あるいはシアリダーゼは前述の置換のいずれかの組合せを含む、請求項1～5いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項7】

P62G置換および/またはA93E置換を含む、請求項1～6いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項8】

P62G、A93E、Q126Y、A242FおよびQ270A置換を含む、請求項1～7いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項9】

(a)野生型ヒトNeu2の1位に対応する位置でのメチオニン残基の置換もしくは欠失(M1)；

(b)野生型ヒトNeu2の6位に対応する位置でのバリン残基の置換(V6)；

(c)野生型ヒトNeu2の187位に対応する位置でのイソロイシン残基の置換(I187)；または

(d)野生型ヒトNeu2の332位に対応する位置でのシステイン残基の置換(C332)；

あるいは前述の置換のいずれかの組合せ

をさらに含む、請求項1～8いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項10】

シアリダーゼにおいて；

(a)野生型ヒトNeu2の1位に対応する位置でのメチオニン残基は欠失される(M1)、アラニン(M1A)で置換される、もしくはアスパラギン酸(M1D)で置換される；

(b)野生型ヒトNeu2の6位に対応する位置でのバリン残基はチロシン(V6Y)で置換される；

(c)野生型ヒトNeu2の187位に対応する位置でのイソロイシン残基はリジン(I187K)で置換される；または

(d)野生型ヒトNeu2の332位に対応する位置でのシステイン残基はアラニン(C332A)で置換される；

あるいはシアリダーゼは、前述の置換のいずれかの組合せを含む、請求項9記載のシアリダーゼ。

【請求項11】

(a)M1D、V6Y、P62G、A93E、I187KおよびC332Aの置換；

(b)M1D、V6Y、K9D、A93E、I187K、C332A、V363RおよびL365Iの置換；

(c)M1D、V6Y、P62N、I187KおよびC332Aの置換；

(d)M1D、V6Y、I187K、Q270A、S301R、W302KおよびC332Aの置換；

(e) M1D、V6Y、P62S、I187K、Q270A、S301R、W302KおよびC332Aの置換；
 (f) M1D、V6Y、P62T、I187K、Q270A、S301R、W302KおよびC332Aの置換；
 (g) M1D、V6Y、P62N、I187K、Q270A、S301R、W302KおよびC332Aの置換；
 (h) M1D、V6Y、P62G、A93E、I187K、S301A、W302RおよびC332Aの置換；
 (i) M1D、V6Y、P62G、A93E、Q126Y、I187K、Q270TおよびC332Aの置換；
 (j) M1D、V6Y、P62G、A93E、Q126Y、I187KおよびC332Aの置換；または
 (k) M1D、V6Y、P62G、A93E、Q126Y、I187K、A242F、Q270TおよびC332Aの置換

を含む、請求項10記載のシアリダーゼ。

【請求項12】

M1D、V6Y、P62G、A93E、I187KおよびC332Aの置換を含む、請求項10または11記載のシアリダーゼ。

【請求項13】

M1D、V6Y、P62G、A93E、Q126Y、I187K、A242F、Q270TおよびC332Aの置換を含む、請求項10または11記載のシアリダーゼ。

【請求項14】

Neu1、Neu2、Neu3およびNeu4から選択される、請求項1～13いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項15】

Neu2である、請求項14記載のシアリダーゼ。

【請求項16】

配列番号：48～54、149、154、159または191のいずれか1つを含む、請求項1～15いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項17】

配列番号：48を含む、請求項1～15いずれか記載のシアリダーゼ。

【請求項18】

(a) 請求項1～17いずれか記載の組換え変異体ヒトシアリダーゼ；および
 (b) 免疫グロブリンFcドメインおよび/または免疫グロブリン抗原結合ドメインを含む融合タンパク質であって、シアリダーゼおよび免疫グロブリンFcドメインおよび/または免疫グロブリン抗原結合ドメインがペプチド結合またはアミノ酸リンカーにより連結される、融合タンパク質。

【請求項19】

免疫グロブリンFcドメインを含む、請求項18記載の融合タンパク質。

【請求項20】

免疫グロブリンFcドメインが、ヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4のFcドメインに由来する、請求項19記載の融合タンパク質。

【請求項21】

免疫グロブリンFcドメインが、ヒトIgG1 Fcドメインに由来する、請求項20記載の融合タンパク質。

【請求項22】

免疫グロブリン抗原結合ドメインを含む、請求項18～21いずれか記載の融合タンパク質。

【請求項23】

免疫グロブリン抗原結合ドメインが第2の免疫グロブリン抗原結合ドメインと結合して、抗原結合部位を生じる、請求項22記載の融合タンパク質。

【請求項24】

免疫グロブリン抗原結合ドメインが、トラスツズマブ、ダラツムマブ、ギレンツキシマブ、オフアツムマブ、アベルマブおよびリツキシマブから選択される抗体に由来する、請求項22または23記載の融合タンパク質。

【請求項25】

10

20

30

40

50

請求項 1 8 ~ 2 4 いずれか記載の融合タンパク質を含む、抗体コンジュゲート。

【請求項 2 6】

抗体コンジュゲートが：

- (a) 免疫グロブリン軽鎖を含む第1のポリペプチド；
 - (b) 免疫グロブリン重鎖を含む第2のポリペプチド；ならびに
 - (c) 免疫グロブリンFcドメインおよびシアリダーゼを含む第3のポリペプチド
- を含み；

第1および第2のポリペプチドが共有結合して一緒になり、第2および第3のポリペプチドが結合して一緒になり、第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドが一緒になって抗原結合部位を画定する、請求項 2 5 記載の抗体コンジュゲート。

10

【請求項 2 7】

第3のポリペプチドが、N末端からC末端方向でシアリダーゼおよび免疫グロブリンFcドメインを含む、請求項 2 6 記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 2 8】

請求項 1 ~ 1 7 いずれか記載の組換え変異体ヒトシアリダーゼ、請求項 1 8 ~ 2 4 いずれか記載の融合タンパク質、または請求項 2 5 ~ 2 7 いずれか記載の抗体コンジュゲートの少なくとも一部をコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。

【請求項 2 9】

請求項 2 8 記載の核酸を含む発現ベクター。

【請求項 3 0】

請求項 2 9 記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

20

【請求項 3 1】

請求項 1 ~ 1 7 いずれか記載の組換え変異体ヒトシアリダーゼ、請求項 1 8 ~ 2 4 いずれか記載の融合タンパク質、または請求項 2 5 ~ 2 7 いずれか記載の抗体コンジュゲートを含む、医薬組成物。

【請求項 3 2】

請求項 1 ~ 1 7 いずれか記載の組換え変異体ヒトシアリダーゼ、請求項 1 8 ~ 2 4 いずれか記載の融合タンパク質または請求項 2 5 ~ 2 7 いずれか記載の抗体コンジュゲートを含む、治療に使用するための組成物。

【請求項 3 3】

治療に使用するための、請求項 3 1 記載の医薬組成物。

30

【請求項 3 4】

該治療が、癌の治療を必要とする被験体の癌の治療である、請求項 3 2 記載の組成物または請求項 3 3 記載の医薬組成物。

40

50