

【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17年8月18日(2005.8.18)

【公表番号】特表2002-518460(P2002-518460A)

【公表日】平成14年6月25日(2002.6.25)

【出願番号】特願2000-555637(P2000-555637)

【国際特許分類第7版】

A 6 1 K 39/395

A 6 1 K 33/22

A 6 1 K 51/00

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 49/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00

【F I】

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 33/22

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 49/00 C

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00

A 6 1 K 43/00

【手続補正書】

【提出日】平成15年11月21日(2003.11.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

患者の罹患組織の治療または同定に使用するためのキットであって、

(A) 標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームとターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントと、

(B) 前記二重特異性抗体または抗体フラグメントの前記少なくとも1つの他のアームによって認識可能な少なくとも1つのエピトープを含むかまたは担持するキャリア部分と、複合した1以上の治療薬、診断薬または酵素とを含む第1のターゲッティング可能な複合体と、

(C) 任意選択的に、局在していない抗体および抗体フラグメントのクリアリングに使用するためのクリアリング組成物と、

(D) 任意選択的に、前記第1のターゲッティング可能な複合体が酵素を含む場合には、

1) 前記酵素がプロドラッグを標的部位において薬物に変換することができる場合、プロドラッグ、または、

2) 前記酵素が解毒中間体を有毒な形態に再変換し、その結果、標的部位において前記

薬物の毒性が増加し得る場合、前記患者中で解毒されて毒性の低い中間体を形成することができる薬物、または、

3) 前記酵素が解毒中間体を有毒な形態に再変換し、その結果、標的部位において前記薬物の毒性が増加し得る場合、天然の過程によって前記患者中で活性化され、毒性に低い中間体に変換されることによって解毒に供されるプロドラッグ、または、

4) 前記酵素が標的部位において前記プロドラッグを薬物に変換することができる場合、前記二重特異性抗体または抗体フラグメントの前記少なくとも1つの他のアームによって認識することができる少なくとも1つのエピトープを含むかまたは担持するキャリア部分と、プロドラッグとを含む第2のターゲッティング可能な複合体とを含むキット。

【請求項2】

標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメント。

【請求項3】

標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントを宿主中で生成することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物であって、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、前記二重特異性抗体または抗体フラグメントをコードするDNA配列、および前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性抗体または抗体フラグメントは前記調節領域の調節下である組換えDNA構築物。

【請求項4】

標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントを生成することができる発現力セットのセットであって、各力セットは、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、前記二重特異性抗体のフラグメントをコードするDNA配列、および前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記フラグメントは前記調節領域の調節下である発現力セットのセット。

【請求項5】

標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントを調製する方法であって、

(A) 宿主細胞に請求項1に記載の組換えDNA構築物を移入するステップと、

(B) 前記細胞を増殖させ、前記抗体または抗体フラグメントを単離するステップとを含む調製方法。

【請求項6】

標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性融合タンパク質の調製方法であって、

(1) (A) 前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントを宿主中で産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、Fdフラグメントに連結したscFvをコードするDNA配列、ならびに前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性融合タンパク質の前記フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(B) (A)における前記Fdフラグメントに相補的で、前記Fdフラグメントに会合

する場合、結合部位が前記標的組織に特異的な F a b フラグメントを形成する軽鎖抗体フラグメントを前記宿主細胞中に産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を前記宿主細胞に同時移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、軽鎖抗体フラグメントをコードするDNA配列、ならびに前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記軽鎖抗体フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(C) 前記細胞を増殖させ、前記二重特異性融合タンパク質を単離するステップとを含むか、または、

(2)(A) 前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントを宿主細胞中で産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を第1の宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記第1の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記第1の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、F d フラグメントに連結した s c F v をコードするDNA配列、ならびに前記第1の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性融合タンパク質の前記フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(B)(2)(A)における前記 F d フラグメントに相補的で、前記 F d フラグメントに会合する場合、結合部位が前記標的組織に特異的な F a b フラグメントを形成する軽鎖抗体フラグメントを第2の宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記第2の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記第2の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、軽鎖抗体フラグメントをコードするDNA配列、ならびに前記第2の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記軽鎖抗体フラグメントは前記調節領域の調節下であり

(C) 前記第1の宿主細胞および前記第2の宿主細胞を増殖させるステップと、

(D) 任意選択的に、前記二重特異性融合タンパク質フラグメントおよび前記軽鎖抗体フラグメントを単離するステップと、

(E) 二重特異性融合タンパク質と産生するために前記フラグメントを組み合わせて、前記二重特異性融合タンパク質を単離するステップと
を含む調製方法。

【請求項7】

標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性融合タンパク質の調製方法であって、

(1)(A) 前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントを宿主細胞中で産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、軽鎖抗体フラグメントに連結した s c F v をコードするDNA配列、ならびに前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性融合タンパク質の前記フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(B)(A)における前記軽鎖抗体フラグメントに相補的で、前記軽鎖抗体フラグメントに会合する場合、結合部位が前記標的組織に特異的な F a b フラグメントを形成する F d フラグメントを前記宿主細胞中に産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を前記宿主細胞に同時移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、F d フラグメントをコードするDNA配列、ならびに前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記 F d フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(C) 前記細胞を増殖させ、前記二重特異性融合タンパク質を単離するステップと

を含むか、または、

(2) (A) 前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントを第1の宿主細胞中で產生することができる発現カセットを含む組換えDNA構築物を前記第1の宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記第1の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記第1の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、前記軽鎖抗体フラグメントに連結したscFvをコードするDNA配列、ならびに前記第1の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(B) (2) (A)における前記軽鎖抗体フラグメントに相補的で、前記軽鎖抗体フラグメントに会合する場合、結合部位が前記標的組織に特異的なFabフラグメントを形成する軽鎖抗体フラグメントを第2の宿主細胞中に产生することができる発現カセットを含む組換えDNA構築物を前記第2の宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記第2の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記第2の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、FdフラグメントをコードするDNA配列、ならびに前記第2の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記Fdフラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(C) 前記第1の宿主細胞および前記第2の宿主細胞を増殖させるステップと、

(D) 任意選択的に、前記二重特異性融合タンパク質フラグメントおよび前記Fdフラグメントを単離するステップと、

(E) 前記フラグメントを組み合わせて二重特異性融合タンパク質を产生し、前記二重特異性融合タンパク質を単離するステップと

を含む調製方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0081

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0081】

本発明のさらに別の態様によれば、本発明は、標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームおよびターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームを有する二重特異性抗体または抗体フラグメント、二重特異性抗体または抗体フラグメントの少なくとも1つの他のアームによって認識可能な少なくとも1つのエピトープを含むか保有するキャリア部分を含む第1のターゲッティング可能な複合体、1つまたは複数の結合した治療薬もしくは診断薬または酵素、ならびに、任意選択的に、局在していない抗体および抗体フラグメントのクリアリングに有用なクリアリング組成物を含む患者の罹患組織の治療または同定に適切なキットを提供する。第1のターゲッティング可能な複合体が酵素を含む場合、キットは、酵素がプロドラッグを標的部位で薬物に変換することができる場合の、プロドラッグ、または酵素が解毒中間体を有毒な形態に再変換し、その結果標的部位で薬物の毒性が増加し得る場合、患者内で解毒されて毒性の低い中間体を形成することができる薬物、または酵素が解毒中間体を有毒な形態に再変換し、その結果標的部位で薬物の毒性が増加し得る場合、天然の処理によって患者内で活性化され、毒性の低い中間体に変換されることによって解毒に供されるプロドラッグ、または酵素が標的部位でプロドラッグを薬物に変換することができる場合、二重特異性抗体または抗体フラグメントの少なくとも1つの他のアームによって認識することができる少なくとも1つのエピトープを含むか保有するキャリア部分を含む第2のターゲッティング可能な複合体を任意選択的に含むことができる。罹患組織の同定または治療を促進する機器もキットに含むことができる。例として、シリンジなどの適用デバイスが含まれるが、これに限定されない。罹患組織の同定または治療用の本発明の開示物の利用に必要な溶液もキットに含むことができる。

以下は、本発明の実施態様例である。

[1] 患者の罹患組織の治療方法または同定方法であって、

(A) 標的組織に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントを前記患者に投与するステップと、

(B) 任意選択的に、クリアリング組成物を前記患者に投与して、局在していない抗体または抗体フラグメントを前記組成物によって循環からクリアリングするステップと、

(C) 前記二重特異性抗体または抗体フラグメントの前記少なくとも 1 つの他のアームによって認識可能な少なくとも 1 つのエピトープを含むか又は担持するキャリア部分と、複合した 1 以上の治療薬、診断薬または酵素とを含む第 1 のターゲッティング可能な複合体を前記患者に投与するステップと、

(D) 前記ターゲッティング可能な複合体が酵素を含む場合には、

1) 前記酵素がプロドラッグを標的部位において薬物に変換することができる場合、プロドラッグ、または、

2) 前記酵素が解毒中間体を有毒な形態に再変換し、その結果、標的部位における前記薬物の毒性が増加し得る場合、前記患者中で解毒されて毒性の低い中間体を形成することができる薬物、または、

3) 前記酵素が解毒中間体を有毒な形態に再変換し、その結果、標的部位において前記薬物の毒性が増加し得る場合、天然の過程によって前記患者中で活性化され、毒性の低い中間体に変換されることによって解毒されるプロドラッグ、または、

4) 前記酵素が標的部位において前記プロドラッグを薬物に変換することができる場合、前記二重特異性抗体または抗体フラグメントの前記少なくとも 1 つの他のアームによって認識することができる少なくとも 1 つのエピトープを含むかまたは担持するキャリア部分とプロドラッグとを含む第 2 のターゲッティング可能な複合体

を前記患者にさらに投与するステップと

を含む方法。

[2] 前記第 1 のターゲッティング可能な複合体がプロドラッグを含む場合、前記少なくとも 1 つの他の前記二重特異性抗体または抗体フラグメントによって認識することができる少なくとも 1 つのエピトープを含むかまたは担持するキャリア部分と、前記プロドラッグを薬物に変換することができるか前記薬物の解毒中間体を有毒形態に再変換することができる酵素とを含む第 2 のターゲッティング可能な複合体を投与するステップをさらに含む実施態様例 1 に記載の方法。

[3] 前記治療薬が、罹患組織の死滅に使用するための 1 以上の放射性同位元素を含む実施態様例 1 に記載の方法。

[4] 前記治療薬が、ホウ素原子を含み、前記方法は、前記罹患組織に局在する前記ホウ素原子を照射して、それにより前記罹患組織のホウ素中性子捕獲療法 (B N C T) を達成するステップをさらに含む実施態様例 1 に記載の方法。

[5] 前記ホウ素原子が、¹⁰B 濃縮されている実施態様例 4 に記載の方法。

[6] 前記治療薬が、1 以上の毒素を含む実施態様例 1 に記載の方法。

[7] 前記治療薬が、1 以上の薬物を含む実施態様例 1 に記載の方法。

[8] 前記治療薬が、1 以上のプロドラッグを含む実施態様例 1 に記載の方法。

[9] 前記診断薬が、罹患組織の検出に使用するための 1 以上の放射性同位元素を含む実施態様例 1 に記載の方法。

[10] 前記診断薬が、核磁気共鳴映像法 (M R I) における使用のための 1 以上の画像増強剤を含む実施態様例 1 に記載の方法。

[11] 前記放射性同位元素が、ポジトロン放出断層撮影 (P E T) を行うために使用される実施態様例 9 に記載の方法。

[12] 標的組織に特異的に結合する前記少なくとも 1 つのアームが、モノクローナル抗体またはモノクローナル抗体のフラグメントである実施態様例 1 に記載の方法。

[13] ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する前記少なくとも 1 つの他のアームが、モノクローナル抗体またはモノクローナル抗体のフラグメントである実施態

様例 1 に記載の方法。

[1 4] 標的組織に特異的に結合する前記少なくとも 1 つのアームが、ヒト化抗体またはヒト化抗体のフラグメントである実施態様例 1 に記載の方法。

[1 5] ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する前記少なくとも 1 つの他のアームが、ヒト化抗体またはヒト化抗体のフラグメントである実施態様例 1 に記載の方法。

[1 6] 前記ターゲッティング可能な複合体が、ペプチドを含む実施態様例 1 に記載の方法。

[1 7] 前記ターゲッティング可能な複合体が、炭水化物を含む実施態様例 1 に記載の方法。

[1 8] 前記ターゲッティング可能な複合体が、1 以上のハプテンを含む実施態様例 1 に記載の方法。

[1 9] 前記ターゲッティング可能な複合体が、1 以上のキレート剤または金属 - キレート複合体を含む実施態様例 1 に記載の方法。

[2 0] 前記二重特異性抗体または抗体フラグメントが、放射性核種をさらに含む実施態様例 1 に記載の方法。

[2 1] 前記ペプチドが、X-Gly-D-Tyr-D-Trp-Gly-D-Lys(X)-Gly-D-Tyr-D-Trp-OH であり、X が、遊離のアミノ酸基、保護アミノ酸基、キレート剤、および金属 - キレート複合体からなる群から選択される部分を示す実施態様例 1 6 に記載の方法。

[2 2] 前記ペプチドが、Ac-Cys(Y)-D-Tyr-D-Trp-Gly-D-Cys(Y)-Gly-D-Tyr-D-Trp-OH であり、Y は遊離のチオール基、保護チオール基、キレート剤、および金属 - キレート複合体からなる群から選択される部分を示す実施態様例 1 6 に記載の方法。

[2 3] 前記ペプチドが、Ac-Gly-D-iodo-Tyr-D-Trp-Gly-D-Lys(Ac)-Gly-D-iodo-Tyr-D-Trp-OH である実施態様例 1 6 に記載の方法。

[2 4] 前記ペプチドが、異なる金属イオンと選択的に複合することができる 2 以上のキレート剤を含み、一方または両方の陽イオンが診断に使用するための放射性同位元素または治療用放射性同位元素である実施態様例 1 6 に記載の方法。

[2 5] 少なくとも 1 つの前記キレート剤が、硬い酸の陽イオン用の硬い塩基のキレート剤であり、少なくとも 1 つの前記キレート剤が、軟らかい酸の陽イオン用の軟らかい塩基のキレート剤である実施態様例 1 9 に記載の方法。

[2 6] 前記硬い塩基のキレート剤が、炭水化物およびアミン基を含む実施態様例 2 5 に記載の方法。

[2 7] 前記硬い塩基のキレート剤が、DTPA、NOTA、DOTA、またはETA である実施態様例 2 6 に記載の方法。

[2 8] 前記軟らかい塩基のキレート剤が、少なくとも 1 つの硫黄含有基を含む実施態様例 1 9 に記載の方法。

[2 9] 前記軟らかい塩基のキレート剤が、置換または非置換チオセミカルバゾニルグリオキシリシスティン (TscGcys) またはチオセミカルバジニルアセチルシスティン (TscAcys) である実施態様例 2 8 に記載の方法。

[3 0] 患者の罹患組織の治療または同定に使用するためのキットであって、

(A) 標的組織に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームとターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントと、

(B) 前記二重特異性抗体または抗体フラグメントの前記少なくとも 1 つの他のアームによって認識可能な少なくとも 1 つのエピトープを含むかまたは担持するキャリア部分と、複合した 1 以上の治療薬、診断薬または酵素とを含む第 1 のターゲッティング可能な複合体と、

(C) 任意選択的に、局在していない抗体および抗体フラグメントのクリアリングに使用するためのクリアリング組成物と、

(D) 任意選択的に、前記第1のターゲッティング可能な複合体が酵素を含む場合には、

1) 前記酵素がプロドラッグを標的部位において薬物に変換することができる場合、プロドラッグ、または、

2) 前記酵素が解毒中間体を有毒な形態に再変換し、その結果、標的部位において前記薬物の毒性が増加し得る場合、前記患者中で解毒されて毒性の低い中間体を形成することができる薬物、または、

3) 前記酵素が解毒中間体を有毒な形態に再変換し、その結果、標的部位において前記薬物の毒性が増加し得る場合、天然の過程によって前記患者中で活性化され、毒性に低い中間体に変換されることによって解毒に供されるプロドラッグ、または、

4) 前記酵素が標的部位において前記プロドラッグを薬物に変換することができる場合、前記二重特異性抗体または抗体フラグメントの前記少なくとも1つの他のアームによって認識することができる少なくとも1つのエピトープを含むかまたは担持するキャリア部分と、プロドラッグとを含む第2のターゲッティング可能な複合体を含むキット。

[31] 前記第1のターゲッティング可能な複合体がプロドラッグを含む場合、前記二重特異性抗体または抗体フラグメントの前記少なくとも1つの他のアームによって認識することができる少なくとも1つのエピトープを含むかまたは担持するキャリア部分を含む第2のターゲッティング可能な複合体と、前記プロドラッグを薬物に変換することができるかまたは前記薬物の解毒中間体を有毒形態に再変換することができる酵素をさらに含む実施態様例30に記載のキット。

[32] 標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメント。

[33] 前記抗体または抗体フラグメントが、ヒト化されている実施態様例32に記載の二重特異性抗体または抗体フラグメント。

[34] 前記抗体または抗体フラグメントが、モノクローナルである実施態様例32に記載の二重特異性抗体または抗体フラグメント。

[35] 標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントを宿主中で生成することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物であって、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、前記二重特異性抗体または抗体フラグメントをコードするDNA配列、および前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性抗体または抗体フラグメントは前記調節領域の調節下である組換えDNA構築物。

[36] 標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントを生成することができる発現力セットのセットであって、各カセットは、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、前記二重特異性抗体のフラグメントをコードするDNA配列、および前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記フラグメントは前記調節領域の調節下である発現力セットのセット。

[37] 標的組織に特異的に結合する少なくとも1つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも1つの他のアームとを有する二重特異性抗体または抗体フラグメントを調製する方法であって、

(A) 宿主細胞に実施態様例1に記載の組換えDNA構築物を移入するステップと、

(B) 前記細胞を増殖させ、前記抗体または抗体フラグメントを単離するステップと

を含む調製方法。

[3 8] 前記宿主細胞が、哺乳動物細胞である実施態様例 3 7 に記載の方法。

[3 9] 前記哺乳動物細胞が接合体であり、前記組換えDNA構築物の移入により前記二重特異性抗体または抗体フラグメントを産生することができるトランスジェニック動物が生成される実施態様例 3 8 に記載の方法。

[4 0] 前記宿主細胞が、昆虫細胞である実施態様例 3 7 に記載の方法。

[4 1] 前記宿主細胞が、細菌細胞である実施態様例 3 7 に記載の方法。

[4 2] 1 以上の前記二重特異性抗体または抗体フラグメントが、そのそれぞれの八
ブテンについての複数の結合部位を有する実施態様例 3 7 に記載の方法。

[4 3] 標的組織に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームと、ターゲッティング
可能な複合体に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを有する二重特異性融合
タンパク質の調製方法であって、

(1) (A) 前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントを宿主中で産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、Fdフラグメントに連結したscFvをコードするDNA配列、ならびに前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性融合タンパク質の前記フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(B) (A) における前記Fdフラグメントに相補的で、前記Fdフラグメントに会合する場合、結合部位が前記標的組織に特異的なFabフラグメントを形成する軽鎖抗体フラグメントを前記宿主細胞中に産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を前記宿主細胞に同時移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、軽鎖抗体フラグメントをコードするDNA配列、ならびに前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記軽鎖抗体フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(C) 前記細胞を増殖させ、前記二重特異性融合タンパク質を単離するステップとを含むか、または、

(2) (A) 前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントを宿主細胞中で産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を第1の宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記第1の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記第1の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、Fdフラグメントに連結したscFvをコードするDNA配列、ならびに前記第1の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性融合タンパク質の前記フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(B) (2) (A) における前記Fdフラグメントに相補的で、前記Fdフラグメントに会合する場合、結合部位が前記標的組織に特異的なFabフラグメントを形成する軽鎖抗体フラグメントを第2の宿主細胞中に産生することができる発現力セットを含む組換えDNA構築物を第2の宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記第2の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記第2の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、軽鎖抗体フラグメントをコードするDNA配列、ならびに前記第2の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記軽鎖抗体フラグメントは前記調節領域の調節下であり

(C) 前記第1の宿主細胞および前記第2の宿主細胞を増殖させるステップと、

(D) 任意選択的に、前記二重特異性融合タンパク質フラグメントおよび前記軽鎖抗体フラグメントを単離するステップと、

(E) 二重特異性融合タンパク質と産生するために前記フラグメントを組み合わせて、前記二重特異性融合タンパク質を単離するステップと
を含む調製方法。

[4 4] 標的組織に特異的に結合する少なくとも 1 つのアームと、ターゲッティング可能な複合体に特異的に結合する少なくとも 1 つの他のアームとを有する二重特異性融合タンパク質の調製方法であって、

(1) (A) 前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントを宿主細胞中で產生することができる発現力セットを含む組換え DNA 構築物を宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、軽鎖抗体フラグメントに連結した scFv をコードする DNA 配列、ならびに前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性融合タンパク質の前記フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(B) (A) における前記軽鎖抗体フラグメントに相補的で、前記軽鎖抗体フラグメントに会合する場合、結合部位が前記標的組織に特異的な Fab フラグメントを形成する Fd フラグメントを前記宿主細胞中に產生することができる発現力セットを含む組換え DNA 構築物を前記宿主細胞に同時移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、Fd フラグメントをコードする DNA 配列、ならびに前記宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記 Fd フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(C) 前記細胞を増殖させ、前記二重特異性融合タンパク質を単離するステップとを含むか、または、

(2) (A) 前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントを第 1 の宿主細胞中で產生することができる発現力セットを含む組換え DNA 構築物を前記第 1 の宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記第 1 の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記第 1 の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、前記軽鎖抗体フラグメントに連結した scFv をコードする DNA 配列、ならびに前記第 1 の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記二重特異性融合タンパク質のフラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(B) (2) (A) における前記軽鎖抗体フラグメントに相補的で、前記軽鎖抗体フラグメントに会合する場合、結合部位が前記標的組織に特異的な Fab フラグメントを形成する軽鎖抗体フラグメントを第 2 の宿主細胞中に产生することができる発現力セットを含む組換え DNA 構築物を前記第 2 の宿主細胞に移入するステップと、ここで、前記構築物は、5'から3'の転写方向で、前記第 2 の宿主細胞中で機能的な転写開始調節領域、前記第 2 の宿主細胞中で機能的な翻訳開始調節領域、Fd フラグメントをコードする DNA 配列、ならびに前記第 2 の宿主細胞中で機能的な転写および翻訳終止調節領域を含み、前記 Fd フラグメントは前記調節領域の調節下であり、

(C) 前記第 1 の宿主細胞および前記第 2 の宿主細胞を増殖させるステップと、

(D) 任意選択的に、前記二重特異性融合タンパク質フラグメントおよび前記 Fd フラグメントを単離するステップと、

(E) 前記フラグメントを組み合わせて二重特異性融合タンパク質を產生し、前記二重特異性融合タンパク質を単離するステップとを含む調製方法。

[4 5] 前記宿主細胞が、哺乳動物細胞である実施態様例 4 3 に記載の方法。

[4 6] 前記宿主細胞が、昆虫細胞である実施態様例 4 3 に記載の方法。

[4 7] 前記宿主細胞が、細菌細胞である実施態様例 4 3 に記載の方法。

[4 8] 前記宿主細胞が、哺乳動物細胞である実施態様例 4 4 に記載の方法。

[4 9] 前記宿主細胞が、昆虫細胞である実施態様例 4 4 に記載の方法。

[5 0] 前記宿主細胞が、細菌細胞である実施態様例 4 4 に記載の方法。