

【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20年7月31日(2008.7.31)

【公表番号】特表2008-504289(P2008-504289A)
 【公表日】平成20年2月14日(2008.2.14)
 【年通号数】公開・登録公報2008-006
 【出願番号】特願2007-518346(P2007-518346)
 【国際特許分類】

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 16/00 Z N A

C 1 2 P 21/08

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成20年6月10日(2008.6.10)

【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】

少なくとも1個のアミノ酸残基置換を有する抗体であって、該置換が、Kabatに記載された番号付けシステムによる位置40H、60H、および61Hの残基の、それぞれアラニン、アラニン、およびアスパラギン酸での置換からなる群より選択されるものであり、かつ真核宿主細胞における該抗体の産生レベルが、対応する位置の該置換を含まない抗体と比較して少なくとも1.5倍に増加している、前記抗体。

【請求項2】

(a)位置40Hもしくは60Hのアミノ酸残基がアラニンで置換されているか、もしくは位置61Hのアミノ酸がアスパラギン酸で置換されている、または

(b)位置40Hおよび60Hのアミノ酸残基が両方ともアラニンで置換されている、または

(c)位置40Hのアミノ酸残基がアラニンで置換され、位置61Hのアミノ酸残基がアスパラギン酸で置換されている、または

(d)位置60Hのアミノ酸残基がアラニンで置換され、位置61Hのアミノ酸残基がアスパラギン酸で置換されている、または

(e)位置40Hおよび60Hのアミノ酸残基がアラニンで置換され、位置61Hのアミノ酸残基がアスパラギン酸で置換されている、

請求項1に記載の抗体。

【請求項3】

前記産生レベルが少なくとも1.5～25倍に増加している、請求項1に記載の抗体。

【請求項4】

前記抗体の1種以上の抗原結合特性が、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して少なくとも1～25%改善している、請求項1に記載の抗体。

【請求項5】

前記抗体の1種以上の抗原結合特性が、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して少なくとも25～100%改善している、請求項1に記載の抗体。

【請求項 6】

対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して、前記抗体のいずれの抗原結合特性にも変化がない、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 7】

前記抗体の抗原結合において、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して 5 % 未満の減少が示される、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 8】

前記抗体の 1 種以上の抗原結合特性において、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して 5 ~ 60 % 未満の減少が示される、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 9】

真核宿主細胞からの抗体の産生を増加させる方法であって、下記工程：

(a) 抗体の重鎖をコードするヌクレオチド配列中に 1 以上の突然変異を導入する工程であって、ここで該 1 以上の突然変異が、Kabat に記載の番号付けシステムによる位置 40H、60H、および 61H の、それぞれアラニン、アラニンおよびアスパラギン酸での置換からなる群より選択される 1 個以上のアミノ酸残基置換をもたらすものである工程；および

(b) 抗体の重鎖をコードする該ヌクレオチド配列と、抗体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列とを真核宿主細胞中に導入する工程；

(c) 少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体が真核宿主細胞により発現される条件下で、該真核宿主細胞を培養する工程、を含み、

ここで、対応する位置での該置換を含まない抗体と比較して、少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体の産生は少なくとも 1.5 倍に増加しており、かつその結合特異性は変化していない、前記方法。

【請求項 10】

位置 40H がアラニンで置換される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

位置 60H がアラニンで置換される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

位置 61H がアスパラギン酸で置換される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 13】

位置 40H および 60H がそれぞれアラニンで置換される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 14】

位置 40H および 61H がそれぞれアラニンおよびアスパラギン酸で置換される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 15】

位置 60H および 61H がそれぞれアラニンおよびアスパラギン酸で置換される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 16】

位置 40H、60H および 61H がそれぞれアラニン、アラニンおよびアスパラギン酸で置換される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 17】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体の産生が、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して少なくとも 1.5 ~ 15 倍に増加する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 18】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体の産生が、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して少なくとも 15 ~ 50 倍に増加する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 19】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体の平衡解離定数 (K_D) が、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して少なくとも 1 ~ 25 % 改善される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体の平衡解離定数(K_D)が、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して少なくとも 25 ~ 100 % 改善される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体の平衡解離定数(K_D)に変化がない、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体の抗原結合において、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して 5 % 未満の減少が示される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体の抗原結合において、対応する位置での前記置換を含まない抗体と比較して 5 ~ 60 % 未満の減少が示される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記真核宿主細胞が哺乳動物細胞である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記哺乳動物細胞が、

- (a) HEK293 細胞、
- (b) NS0 細胞、
- (c) CHO 細胞、
- (d) COS 細胞、
- (e) SP2/0 細胞、および
- (f) PER.C6 細胞

からなる群より選択される、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

請求項 9 に記載の方法により製造された、少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む抗体。

【請求項 2 7】

その軽鎖可変領域が配列番号 1 ~ 6 のアミノ酸配列のいずれか 1 つを含み、その重鎖可変領域が配列番号 14 ~ 19 のアミノ酸配列のいずれか 1 つを含む、請求項 2 6 に記載の抗体。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 2】

好ましい実施形態においては、宿主細胞は酵母などの真核微生物を含む真核生物である。より好ましい実施形態においては、宿主細胞は哺乳動物である。そのような哺乳動物宿主細胞としては、限定されるものではないが、CHO、BHK、HeLa、COS、MDCK、NIH3T3、W138、NS0、SP2/0および他のリンパ球細胞、ならびにPER.C6、HEK293などのヒト細胞が挙げられる。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 9 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 9 0】

好ましい実施形態においては、本発明の方法により作製された抗体を、真核宿主細胞中で発現させる。より好ましい実施形態においては、宿主細胞は哺乳動物である。哺乳動物細胞系としては、限定されるものではないが、CHO、BHK、HeLa、COS、MDCK、NIH 3T3、W1

38、NS0、SP2/0および他のリンパ球細胞、ならびに哺乳動物細胞のゲノムから誘導されたプロモーター(例えば、メタロチオネインプロモーター)または哺乳動物ウイルスから誘導されたプロモーター(例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター)を含む組換え発現構築物を担持するPER.C6、HEK293などのヒト細胞が挙げられる。例えば、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要な即時型初期遺伝子プロモーターエレメントなどのベクターと組合わせたチャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)などの哺乳動物細胞は、抗体のための有効な発現系である(Foeckingら、1986, Gene, 45:101;およびCockettら、1990, BioTechnology, 8:2)。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0092

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0092】

さらに、抗体配列の発現をモジュレートするか、または所望の特定の様式で抗体を修飾し、プロセッシングする宿主細胞株を選択することができる。タンパク質産物のそのような修飾(例えば、グリコシル化)およびプロセッシング(例えば、切断)は前記抗体の機能にとって重要であり得る。異なる宿主細胞はタンパク質および遺伝子産物の翻訳後プロセッシングおよび修飾のための特徴的で特有の機構を有する。好適な細胞系または宿主系を選択して、発現される抗体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できる。この目的のために、一次転写物の正確なプロセッシング、遺伝子産物のグリコシル化およびリン酸化のための細胞機構を有する真核宿主細胞を用いることが特に意図される。そのような哺乳動物宿主細胞としては、限定されるものではないが、CHO、BHK、HeLa、COS、MDCK、NIH3T3、W138、NS0、SP2/0および他のリンパ球細胞、ならびにPER.C6、HEK293などのヒト細胞が挙げられる。