

【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】令和6年11月21日(2024.11.21)

【公開番号】特開2024-156791(P2024-156791A)

【公開日】令和6年11月6日(2024.11.6)

【年通号数】公開公報(特許)2024-207

【出願番号】特願2024-124099(P2024-124099)

【国際特許分類】

C 0 7 K 16/46(2006.01)

10

C 0 7 K 16/36(2006.01)

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 1 2 P 21/08(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)

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 P 7/04(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

20

【F I】

C 0 7 K 16/46 Z N A

C 0 7 K 16/36

C 1 2 N 15/13

C 1 2 P 21/08

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

A 6 1 K 39/395 D

30

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 P 7/04

C 1 2 N 15/62 Z

C 0 7 K 16/46

【手続補正書】

【提出日】令和6年11月13日(2024.11.13)

【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

40

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

血液凝固第IX因子(FIX)および/または活性化血液凝固第IX因子(FIXa)に結合する第一の抗原結合部位ならびに血液凝固第X因子(FX)に結合する第二の抗原結合部位を含む二重特異性抗体であって、

前記二重特異性抗体は、FIX活性化阻害活性が実質的になく、かつACE910(Emicizumab)に比べ血液凝固第VIII因子(FVIII)補因子機能代替活性が上昇しており、

前記二重特異性抗体は、

50

前記第一の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる31位のアミノ酸残基がヒスチジン、34位のアミノ酸残基がアラニン、97位のアミノ酸残基がアスパラギン酸、98位のアミノ酸残基がセリン、100位のアミノ酸残基がアスパラギン酸またはグルタミン酸、100a位のアミノ酸残基がアスパラギン酸または欠失、100b位のアミノ酸残基がアラニンまたはヒスチジン、あるいは100e位のアミノ酸残基がヒスチジンまたはイソロイシンであること、

前記第一の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる26位のアミノ酸残基がトレオニン、27位のアミノ酸残基がアルギニン、30位のアミノ酸残基がアルギニン、31位のアミノ酸残基がアルギニン、32位のアミノ酸残基がアスパラギン酸またはグルタミン酸、53位のアミノ酸残基がアルギニン、55位のアミノ酸残基がグルタミン酸、92位のアミノ酸残基がアルギニン、93位のアミノ酸残基がセリンまたはアスパラギン酸、95位のアミノ酸残基がプロリン、あるいは96位のアミノ酸残基がグリシンであること、

10

前記第二の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる31位のアミノ酸残基がアスパラギン、グルタミンまたはヒスチジン、51位のアミノ酸残基がセリン、56位のアミノ酸残基がトレオニンまたはアルギニン、57位のアミノ酸残基がバリン、59位のアミノ酸残基がセリン、61位のアミノ酸残基がアルギニン、62位のアミノ酸残基がリジン、65位のアミノ酸残基がアスパラギンまたはグルタミン、あるいは102位のアミノ酸残基がバリンであること、または

前記第二の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる24位のアミノ酸残基がトレオニン、26位のアミノ酸残基がグルタミン酸、27位のアミノ酸残基がグルタミン、29位のアミノ酸残基がセリン、30位のアミノ酸残基がグルタミン、セリンまたはグルタミン酸、31位のアミノ酸残基がアルギニン、32位のアミノ酸残基がグルタミンまたはグルタミン酸、50位のアミノ酸残基がグルタミン、92位のアミノ酸残基がアラニン、94位のアミノ酸残基がアスパラギン酸、95位のアミノ酸残基がアスパラギン酸またはアラニン、95a位のアミノ酸残基がチロシンまたは欠失、あるいは96位のアミノ酸残基がトレオニンであること、  
を特徴とする、二重特異性抗体。

20

#### 【請求項2】

前記第一の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる100位のアミノ酸残基がグルタミン酸、100a位のアミノ酸残基が欠失、または100e位のアミノ酸残基がイソロイシンであること、

30

前記第一の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる55位のアミノ酸残基がグルタミン酸、92位のアミノ酸残基がアルギニン、95位のアミノ酸残基がプロリン、または96位のアミノ酸残基がグリシンであること、

前記第二の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる28位のアミノ酸残基がグルタミン酸、31位のアミノ酸残基がアスパラギン、グルタミンまたはヒスチジン、51位のアミノ酸残基がセリン、56位のアミノ酸残基がトレオニンまたはアルギニン、57位のアミノ酸残基がバリン、59位のアミノ酸残基がセリン、61位のアミノ酸残基がアルギニン、62位のアミノ酸残基がリジン、65位のアミノ酸残基がアスパラギンまたはグルタミン、67位のアミノ酸残基がロイシン、73位のアミノ酸残基がイソロイシン、82b位のアミノ酸残基がグルタミン酸、あるいは102位のアミノ酸残基がバリンであること、または

40

前記第二の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる24位のアミノ酸残基がトレオニン、26位のアミノ酸残基がグルタミン酸、27位のアミノ酸残基がグルタミン、29位のアミノ酸残基がセリン、30位のアミノ酸残基がグルタミン、セリンまたはグルタミン酸、31位のアミノ酸残基がアルギニン、32位のアミノ酸残基がグルタミンまたはグルタミン酸、50位のアミノ酸残基がグルタミン、92位のアミノ酸残基がアラニン、94位のアミノ酸残基がアスパラギン酸、95位のアミノ酸残基がアスパラギン酸またはアラニン、95a位のアミノ酸残基がチロシン、あるいは96位のアミノ酸残基

50

がトレオニンであること、  
を特徴とする、請求項 1 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 3】

前記第一の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる55位のアミノ酸残基がグルタミン酸であること、

前記第二の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる102位のアミノ酸残基がバリンであること、または

前記第二の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる27位のアミノ酸残基がグルタミン、29位のアミノ酸残基がセリン、または30位のアミノ酸残基がセリンであること、

10

を特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 4】

前記第一の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる98位のアミノ酸残基がセリンであること、

前記第一の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる55位のアミノ酸残基がグルタミン酸であるか、または93位のアミノ酸残基がセリンまたはアスパラギン酸であること、

前記第二の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる102位のアミノ酸残基がバリンであること、または

前記第二の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる27位のアミノ酸残基がグルタミンであるか、29位のアミノ酸残基がセリンであるか、30位のアミノ酸残基がセリンであるか、または95a位のアミノ酸残基が欠失していること、  
を特徴とする、請求項 1 に記載の二重特異性抗体。

20

【請求項 5】

前記第一の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる98位のアミノ酸残基がセリンであること、

前記第一の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる55位のアミノ酸残基がグルタミン酸であり、かつ93位のアミノ酸残基がセリンであること、

前記第二の抗原結合部位の重鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる102位のアミノ酸残基がバリンであること、および

30

前記第二の抗原結合部位の軽鎖可変ドメインにおいてKabatナンバリングによる27位のアミノ酸残基がグルタミンであり、29位のアミノ酸残基がセリンであり、かつ30位のアミノ酸残基がセリンであること、

を特徴とする、請求項 4 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 6】

FIX活性化阻害活性が、以下の工程(1)～(4)を含む方法：

(1) トリス緩衝生理食塩水(TBSB)で希釈した抗体溶液5 $\mu$ Lを、3U/mLのHuman Factor IX (クリスマシンM, 日本血液製剤機構; 溶媒は6.0 $\mu$ Mリン脂質溶液(SYSMEX CO.)), 1.5 mM CaCl<sub>2</sub>を含むTBSB) 5 $\mu$ Lと混合した後、384穴plate中にて室温で30分インキュベーションする；

40

(2) (1)の混合液中の酵素反応を、90 ng/mLのHuman Factor XIa (Enzyme Research Laboratories; 溶媒は6.0 $\mu$ Mリン脂質溶液(SYSMEX CO.)), 1.5 mM CaCl<sub>2</sub>を含むTBSB) 5 $\mu$ Lを添加して開始させ、60分後、0.5 M EDTA 5 $\mu$ Lを添加して停止させる；

(3) 発色反応を、発色基質溶液(Spectrozyme FIXa (Sekisui Diagnostics))を精製水で溶解して6.7 mMの溶液としたのち、エチレングリコールと5:8の割合で混合した溶液) 10 $\mu$ Lを添加することによって、開始させる；

(4) 60分間の発色反応後、405 nmの吸光度変化をSpectroMax 340PC384 (Molecular Devices)を用いて測定する

を用いてOD値を測定した場合、抗体非添加条件のOD値と比べ、OD値の減少が0.025以

50

内である、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の二重特異性抗体。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の二重特異性抗体をコードする、単離された核酸。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 9】

請求項 7 に記載の核酸を含む宿主細胞。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の細胞を培養することを含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の二重特異性抗体を作製する方法。

10

【請求項 11】

請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の二重特異性抗体を含む、血友病 A 治療用組成物。

【請求項 12】

血液凝固第 IX 因子 (FIX) および / または活性化血液凝固第 IX 因子 (FIXa) に結合する第一の抗原結合部位ならびに血液凝固第 X 因子 (FX) に結合する第二の抗原結合部位を含む二重特異性抗体を精製する方法であって、

二種類の重鎖の等電点の差を利用してイオン交換クロマトグラフィーにより前記二重特異性抗体を精製することを含み、

前記二重特異性抗体は、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の二重特異性抗体である、方法。

20

30

40

50