

【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】平成22年11月11日(2010.11.11)

【公表番号】特表2010-508043(P2010-508043A)

【公表日】平成22年3月18日(2010.3.18)

【年通号数】公開・登録公報2010-011

【出願番号】特願2009-535424(P2009-535424)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 16/46

C 0 7 K 16/28

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成22年9月24日(2010.9.24)

【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】

宿主細胞において発現されるヒト化抗体またはその断片の産生量を増加させるための方法であって、以下：

a) 非ヒト哺乳動物種由来の変領域フレームワーク配列中の規定の位置において保存されるコンセンサス残基を同定する；

b) 該非ヒト哺乳動物種のヒト化抗体の変領域フレームワーク配列中の対応する残基と、該コンセンサス残基を比較する；

c) 該ヒト化抗体の変領域フレームワーク配列中の非コンセンサスアミノ酸残基を同定する；

d) 修飾ヒト化抗体またはその断片を産生するために、1 以上の非コンセンサスアミノ酸残基を対応するコンセンサス残基と置換する；

e) 宿主細胞において、該修飾ヒト化抗体またはその断片を発現させる；そして

f) 該細胞から該修飾ヒト化抗体を単離する；

の工程を含み、

ここで該修飾ヒト化抗体の変領域フレームワーク中の 1 以上の置換は、該非修飾ヒト化抗体について得られる産生量と比較して、該修飾ヒト化抗体またはその断片の該細胞からの産生量を増加させる、前記方法。

【請求項 2】

1 以上のアミノ酸が、生物物理学的理由から非コンセンサス残基に置き換えられる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

非ヒト哺乳動物種がマウスである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

宿主細胞が哺乳動物細胞である、請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

断片が、抗原結合部位を含む、請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

断片が、F a b'、F a b、F (a b')₂、単ドメイン抗体 (D A B)、F v、s c F v (単鎖 F v)、直鎖抗体、二重特異性抗体、からなる群より選択される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

置換が重鎖中にある、請求項 1 ないし 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

置換が軽鎖中にある、請求項 1 ないし 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

置換が、重鎖および軽鎖の両方にある、請求項 1 ないし 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

置換が、可変領域フレームワーク配列のコア中にある、請求項 1 ないし 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

非コンセンサスアミノ酸がまれなアミノ酸である、請求項 1 ないし 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

ヒト化抗体が h u C 2 4 2 である、請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

ヒト化抗体が h u C 2 4 2 であり、そして置換が、K a b a t 番号付けスキームによって決定される位の、配列番号 1 中の 1 6、2 6、4 6、もしくは 8 9 より選択される 1 以上の重鎖可変領域位、または配列番号 2 中の軽鎖可変領域位 4 5 もしくは 7 0、あるいは両方における置換であり、そして軽鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 2 によって示され、そして重鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 1 によって示される、請求項 1 ないし 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

ヒト化抗体が h u C 2 4 2 であり、そして置換が、K a b a t 抗体残基番号付けスキームによって決定されるアミノ酸残基の、軽鎖中の Q 4 5 K / R および A 7 0 D からなる群より選択される 1 以上であり、そして軽鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 2 によって示される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

ヒト化抗体が h u C 2 4 2 であり、そして置換が、K a b a t 抗体残基番号付けスキームによって決定されるアミノ酸残基の、重鎖中のアミノ酸残基 E 1 6 A、D 2 6 G、K 4 6 E および T 8 9 V からなる群より選択される 1 つであり、そして重鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 1 によって示される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 16】

ヒト化抗体が h u C 2 4 2 であり、そして置換が、K a b a t 抗体残基番号付けスキームによって決定されるアミノ酸残基の、軽鎖中の Q 4 5 K / R および A 7 0 D からなる群より選択される 1 以上、ならびに重鎖中のアミノ酸残基 E 1 6 A、D 2 6 G、K 4 6 E および T 8 9 V からなる群より選択される 1 以上であり、そして軽鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 2 によって示され、そして重鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 1 によって示される、請求項 13 ないし 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

ヒト化抗体が h u C 2 4 2 であり、そして置換が、K a b a t 抗体残基番号付けスキームによって決定されるアミノ酸残基の、重鎖中のアミノ酸残基 E 1 6 A、D 2 6 G、K 4 6 E、T 8 9 V、K 4 6 E / D 2 6 G、K 4 6 E / K 8 2 S、K 4 6 E / T 8 9 V、K 4

6 E / E 1 6 A / D 2 6 G、K 4 6 E / K 8 2 S / D 2 6 G および K 4 6 E / T 8 9 V / D 2 6 G からなる群より選択される 1 つであり、そして重鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 1 によって示される、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 8】

ヒト化抗体が h u C 2 4 2 であり、そして置換が、K a b a t 抗体残基番号付けスキームによって決定されるアミノ酸残基の、軽鎖中の A 7 0 D または Q 4 5 K / R の 1 つ、および重鎖中の K 4 6 E、D 2 6 G、K 4 6 E / D 2 6 G または K 4 6 E / T 8 9 V の 1 つであり、そして軽鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 2 によって示され、そして重鎖可変領域のアミノ酸配列が配列番号 1 によって示される、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 9】

細胞から単離される修飾ヒト化抗体またはその断片の産生量が、非修飾ヒト化抗体について得られる産生量よりも少なくとも 2 倍またはそれより多い産生量である、請求項 1 ないし 1 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 ないし 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法によって産生される抗体またはその断片。

【請求項 2 1】

単離された核酸であって、重鎖可変領域または軽鎖可変領域をコードする配列の領域中に少なくとも 1 つの変異を有する、修飾ヒト C 2 4 2 コード配列を含み、ここで、宿主細胞における該修飾ヒト C 2 4 2 コード配列の発現は、非修飾 C 2 4 2 遺伝子が該宿主細胞において発現される場合よりも多くの C 2 4 2 抗体タンパク質を産生する、前記単離された核酸。

【請求項 2 2】

少なくとも 1 つの変異が、重鎖可変領域アミノ酸モチーフまたは軽鎖可変領域アミノ酸モチーフ、あるいはその両方、をコードする配列の領域中の変異を含む、請求項 2 1 に記載の核酸。

【請求項 2 3】

モチーフ中の少なくとも 1 つの変異が、

G l n (C A G) をコードするコドンの L y s (A A A) または A r g (C G G) への置換；

A l a (G C T) をコードするコドンの A s p (G A T) への置換；

G l u (G A G) をコードするコドンの A l a (G C C) への置換；

A s p (G A C) をコードするコドンの G l y (G G C) への置換；

L y s (A A A) をコードするコドンの G l u (G A A) への置換；または

T h r (A C C) をコードするコドンの V a l (G T C) への置換；

より選択される、請求項 2 2 に記載の核酸。

【請求項 2 4】

コドンの置換が、軽鎖中または重鎖中で起こる、請求項 2 3 に記載の核酸。

【請求項 2 5】

軽鎖置換が：

Q 4 5 K / R、ここで G l n (C A G) は L y s (A A A) または A r g (C G G) に置換される；あるいは

A 7 0 D、ここで A l a (G C T) は A s p (G A T) に置換される；
より選択される、請求項 2 1 ないし 2 4 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 2 6】

重鎖置換が：

E 1 6 A、ここで G l u (G A G) は A l a (G C C) に置換される；

D 2 6 G、ここで A s p (G A C) は G l y (G G C) に置換される；

K 4 6 E、ここで L y s (A A A) は G l u (G A A) に置換される；または

T 8 9 V、ここで T h r (A C C) は V a l (G T C) に置換される；

より選択される、請求項 21 ないし 24 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 27】

配列が変異体 C 242 遺伝子産物をコードする、請求項 21 ないし 26 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 28】

遺伝子産物が抗体である、請求項 21 ないし 27 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 29】

請求項 21 ないし 27 のいずれか 1 項に記載の核酸を含む細胞。

【請求項 30】

変異抗体であって、配列番号 1 [h u C 242] の重鎖および配列番号 2 [h u C 242] の軽鎖を含む可変領域を有する親抗体において 1 以上のアミノ酸置換を含み、ここで宿主細胞における該変異抗体の発現は、該親抗体が該宿主細胞において発現された場合よりも多くの変異抗体タンパク質を産生する、前記変異抗体。

【請求項 31】

置換が、K a b a t 番号付けスキームによって決定される位置の、配列番号 2 中の 45 および 70、あるいは前記配列番号 1 中の 16、26、46、または 89 より選択される 1 以上の位置における置換である、請求項 30 に記載の抗体。

【請求項 32】

前記置換が、K a b a t 番号付けスキームによって決定される位置の、軽鎖中の Q 45 K/R または A 70 D、あるいは、重鎖中の E 16 A、D 26 G、K 46 E または T 89 V からなる群より選択される、請求項 30 または 31 に記載の抗体。

【請求項 33】

変異抗体が、そのエピトープ結合断片である、請求項 30 ないし 32 のいずれか 1 項に記載の変異抗体。

【請求項 34】

エピトープ結合断片が、F a b'、F a b、F (a b')₂、単ドメイン抗体 (D A B)、F v、s c F v (単鎖 F v)、直鎖抗体、二重特異性抗体、からなる群より選択される、請求項 33 に記載の変異抗体。

【請求項 35】

宿主細胞において発現されるヒト化抗体またはその断片の産生量を増加させるための方法であって、以下：

- a) 非ヒト哺乳動物属由来の可変領域フレームワーク配列中の規定の位置において保存されるコンセンサス残基を同定する；
- b) 該非ヒト哺乳動物属のヒト化抗体の可変領域フレームワーク配列中の対応する残基と、該コンセンサス残基を比較する；
- c) 該ヒト化抗体の可変領域フレームワーク配列中の非コンセンサスアミノ酸残基を同定する；
- d) 修飾ヒト化抗体またはその断片を産生するために、1 以上の非コンセンサスアミノ酸残基を対応するコンセンサス残基と置換する；
- e) 宿主細胞において該修飾ヒト化抗体を発現させる；そして
- f) 該細胞から該修飾ヒト化抗体を単離する；

の工程を含み、

ここで該修飾ヒト化抗体の可変領域フレームワーク中の 1 以上の置換は、該非修飾ヒト化抗体について得られる産生量と比較して、該修飾ヒト化抗体またはその断片の該細胞からの産生量を増加させる、前記方法。

【請求項 36】

宿主細胞において発現される抗体またはその断片の産生量を増加させるための方法であって、以下：

- a) 非ヒト哺乳動物種由来の可変領域フレームワーク配列中の規定の位置において保存されるコンセンサス残基を同定する；

b) 該非ヒト哺乳動物種の候補抗体の可変領域フレームワーク配列中の対応する残基と、該コンセンサス残基を比較する；

c) 該候補抗体の可変領域フレームワーク配列中の非コンセンサスアミノ酸残基を同定する；

d) 修飾候補抗体またはその断片を産生するために、1以上の非コンセンサスアミノ酸残基を対応するコンセンサス残基と置換する；

e) 宿主細胞において該修飾候補抗体を発現させる；そして

f) 該細胞から該修飾候補抗体を単離する；

工程を含み、

ここで該修飾候補抗体の可変領域フレームワーク中の1以上の置換は、該非修飾候補抗体について得られる産生量と比較して、該修飾候補抗体またはその断片の該細胞からの産生量を増加させる、前記方法。