

【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29年3月16日(2017.3.16)

【公表番号】特表2016-511637(P2016-511637A)

【公表日】平成28年4月21日(2016.4.21)

【年通号数】公開・登録公報2016-024

【出願番号】特願2015-557139(P2015-557139)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (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)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 31/337 (2006.01)

A 6 1 K 31/704 (2006.01)

A 6 1 K 31/537 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/407 (2006.01)

A 6 1 K 31/437 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 0 7 K 16/18

C 0 7 K 16/46

C 1 2 P 21/08

A 6 1 K 39/395 L

A 6 1 K 39/395 C

A 6 1 K 31/337

A 6 1 K 31/704

A 6 1 K 31/537

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 31/407

A 6 1 K 31/437

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成29年2月6日(2017.2.6)

【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】

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、以下の部位における1つ以上のアミノ酸のシステムによる置換を含む、イムノコンジュゲート：

a. 前記抗体又は抗体フラグメントの重鎖の定常領域上の、121、124、152、171、174、258、292、333、334、360、375及び392位から選択される部位であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、部位、

b. 前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の定常領域上の、107、108、142、145、159、161及び165位から選択される部位であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカッパ軽鎖である、部位、

c. 前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の定常領域上の、143、147、159、163及び168位から選択される部位であり、前記位置が、Kabataシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトラムダ軽鎖である、部位、

d. 前記抗体又は抗体フラグメントの重鎖の定常領域上の、117、119、121、124、139、152、153、155、157、164、169、171、174、189、205、207、246、258、269、274、286、288、290、292、293、320、322、326、333、334、335、337、344、355、360、375、382、390、392、398、400及び422位から選択される部位であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、部位、

e. 前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の定常領域上の、107、108、109、114、129、142、143、145、152、154、156、159、161、165、168、169、170、182、183、197、199及び203位から選択される部位であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカッパ軽鎖である、部位、または

f. 前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の定常領域上の、143、145、147、156、159、163、168位から選択される部位であり、前記位置が、Kabataシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトラムダ軽鎖である、部位。

【請求項2】

前記抗体又は抗体フラグメントが、

a. 配列番号4、5、10、17、18、29、35、42、43、48、50、54、290、291、292、293、294及び295からなる群、

b. 配列番号61、62、69、71、75、76及び77からなる群、または

c. 配列番号92、94、96、97及び98からなる群

から選択される配列を含む、請求項1に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項3】

前記抗体又は抗体フラグメントが、配列番号10の配列を含む、請求項1または2に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項4】

前記抗体又は抗体フラグメントが、配列番号50の配列を含む、請求項1または2に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項5】

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、以下の部位における2つ以上のアミノ酸のシステムによる置換の組み合わせを含む、請求項1または2に記載のイムノコンジュゲート

：

a . 重鎖の定常領域上の 1 5 2 及び 3 7 5 位であり、前記位置が E U システムに基づいて番号付けされている、部位、

b . 重鎖の定常領域上の 3 2 7 及び 3 7 5 位であり、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされている、部位、

c . 定常領域上の、軽鎖の 1 0 7 位及び重鎖の 3 6 0 位であり、前記軽鎖が、カップ鎖であり、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされている、部位、

d . 定常領域上の、重鎖の 3 7 5 位及び軽鎖の 1 6 5 位であり、前記軽鎖が、カップ鎖であり、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされている、部位、または

e . 定常領域上の、重鎖の 3 3 4 位、軽鎖の 1 6 5 位における置換を含み、前記軽鎖が、カップ鎖であり、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされている、部位。

【請求項 6】

前記修飾抗体又はその抗体フラグメントが、その定常領域上の 3 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換の組み合わせを含み、前記組み合わせが、

a . 抗体重鎖の 3 7 5 及び 3 9 2 位並びに抗体軽鎖の 1 6 5 位、

b . 抗体重鎖の 3 3 4 及び 3 7 5 位並びに抗体軽鎖の 1 6 5 位、

c . 抗体重鎖の 3 3 4 及び 3 9 2 位並びに抗体軽鎖の 1 6 5 位、

d . 抗体重鎖の 1 5 2、3 7 5 及び 3 9 2 位、

e . 抗体重鎖の 1 5 2、3 3 4 及び 3 7 5 位、並びに

f . 抗体重鎖の 1 5 2、3 3 4 及び 3 9 2 位

から選択される置換を含み、前記軽鎖が、カップ鎖であり、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされている、請求項 1 から 5 のいずれか一項のイムノコンジュゲート。

【請求項 7】

前記修飾抗体又はその抗体フラグメントが、その定常領域上の 4 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換の組み合わせを含み、前記組み合わせが、

a . 抗体重鎖の 3 3 4、3 7 5 及び 3 9 2 位並びに抗体軽鎖の 1 6 5 位、

b . 抗体重鎖の 3 3 3、3 7 5 及び 3 9 2 位並びに抗体軽鎖の 1 6 5 位、

c . 抗体重鎖の 1 5 2、3 3 4、3 7 5 及び 3 9 2 位、又は

d . 抗体重鎖の 1 5 2、3 3 3、3 7 5 及び 3 9 2 位

における置換を含み、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされている、請求項 1 から 6 のいずれか一項のイムノコンジュゲート。

【請求項 8】

薬剤抗体比が、約 4、約 6 又は約 8である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 9】

さらに、薬剤部分を含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 10】

薬剤部分が、前記システインの硫黄及び任意のリンカーを介して、前記修飾抗体又は抗体フラグメントに付着している、請求項 9 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 11】

前記薬剤部分が、開裂性又は非開裂性のリンカーを介して、前記システインの前記硫黄に結合している、請求項 10 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 12】

前記イムノコンジュゲートが、チオール - マレイミド結合、- S - C H<sub>2</sub> - C ( = O ) - 結合又はジスルフィド結合を含む、請求項 10 または 11 に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 13】

前記薬剤部分が、細胞傷害剤である、請求項 9 から 12 のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項 14】

前記薬剤部分が、タキサン、DNAアルキル化剤（例えば、CC-1065類似体）、アントラサイクリン、チューブリシン類似体、デュオカルマイシン類似体、オーリスタチン類及びメイタンシノイドからなる群から選択される、請求項13に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項15】

前記抗体が、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体、二重特異性抗体又は多重特異性抗体である、請求項1から14のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項16】

前記抗体又は抗体フラグメントが、腫瘍に特有の細胞表面マーカーに特異的に結合する、請求項1から15のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項17】

前記細胞表面マーカーがHer2である、請求項1から16のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

【請求項18】

請求項1から17のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲートを含む医薬組成物。

【請求項19】

以下より選択される、その定常領域上における1つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含む、修飾抗体又はその抗体フラグメント：

a. 前記抗体又は抗体フラグメントの重鎖の、117、119、121、124、139、152、153、155、157、164、169、171、174、189、205、207、246、258、269、274、286、288、290、292、293、320、322、326、333、334、335、337、344、355、360、375、382、390、392、398、400及び422位から選択される位置であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、位置、

b. 前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の、107、108、109、114、129、142、143、145、152、154、156、159、161、165、168、169、170、182、183、197、199及び203位から選択される位置であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカッパ軽鎖である、位置、または

c. 前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖のその定常領域上の、143、145、147、156、159、163、168位から選択される位置であり、前記位置が、Kabataシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトラムダ軽鎖である、位置。

【請求項20】

前記置換が、

a. 重鎖の152位、

b. 重鎖の375位、

c. 重鎖の152位および375位、

d. 重鎖の327位および375位、

e. 軽鎖の107位および重鎖の360位、

f. 重鎖の375位および軽鎖の165位、

g. 重鎖の334位および軽鎖の165位、

h. 重鎖の375位および392位、並びに軽鎖の165位、

i. 重鎖の334位および375位、並びに軽鎖の165位、

j. 重鎖の334位および392位、並びに軽鎖の165位、

k. 重鎖の152位、375位および392位、

l. 重鎖の152位、334位および375位、

m. 重鎖の152位、334位および392位、

n. 重鎖の334位、375位および392位、並びに軽鎖の165位、

o . 重鎖の 3 3 3 位、 3 7 5 位および 3 9 2 位、並びに軽鎖の 1 6 5 位、  
p . 重鎖の 1 5 2 位、 3 3 4 位、 3 7 5 位および 3 9 2 位、または  
q . 重鎖の 1 5 2 位、 3 3 3 位、 3 7 5 位および 3 9 2 位

から選択される位置にあり、前記軽鎖が、カップ鎖であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、請求項 19 に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

【請求項 21】

請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の修飾抗体又は抗体フラグメントをコードする核酸。

【請求項 22】

請求項 21 に記載の核酸を含む宿主細胞。

【請求項 23】

修飾抗体又は抗体フラグメントを製造する方法であって、

請求項 22 に記載の宿主細胞を、前記抗体又は抗体フラグメントを発現させるのに適した条件下でインキュベートすること、及び、前記抗体又は抗体フラグメントを単離することを含む、方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0249

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0249】

実施例 12 . トラスツズマブ C y s - M M A F A D C の i n v i v o 有効性試験  
i n v i v o 異種移植片腫瘍モデルは、関連する十分特徴付けられたヒト原発性腫瘍  
又は腫瘍細胞株を、免疫不全ヌードマウスに移植することにより観察される生物学的活性  
をシミュレートする。抗ガン剤による腫瘍異種移植マウスの処置試験は、試験した試薬の  
i n v i v o 有効性に関する有益な情報を提供している (Sausville and Burger, 2006  
)。M D A - M B 2 3 1 クローン 1 6 細胞が抗原依存的な方法でトラスツズマブ C y s -  
M M A F A D C に感受性であったため (図 1 5 )、前記細胞株を i n v i v o モデル  
として選択し、前記トラスツズマブ C y s - M M A F A D C を評価した。全ての動物試験を、  
実験動物の管理と使用に関する指標 (NIH publication ; National Academy Press,  
8th edition, 2001) に基づいて行った。M D A - M B 2 3 1 クローン 1 6 細胞を、n u  
/ n u マウスの皮下に移植した (Morton and Houghton, 2007)。腫瘍サイズが約 2 0 0  
m m<sup>3</sup> に達した後に、トラスツズマブ C y s - M M A F A D C を、3 m g / k g の単回  
投与での I V 注射により、前記マウスに投与した。前記腫瘍の成長を、A D C 注射後に毎  
週測定した。各処置群には、9 匹のマウスが含まれていた。3 つのトラスツズマブ C y s  
- M M A F A D C による i n v i v o 有効性試験の例を、図 2 2 に示す。3 m g / k  
g のトラスツズマブ C y s - M M A F A D C によるマウスの処置により、試験した 3 つ  
の C y s - M M A F A D C 全てについて、腫瘍退縮が引き起こされた (図 2 2 )。前記  
A D C 処置に関連する体重減少は観察されなかった。前記結果から、3 m g / k g での単  
回投与処置により、トラスツズマブ C y s - M M A F A D C は、M D A - M B 2 3 1 ク  
ローン 1 6 腫瘍の退縮を効果的に引き起こしたことが確認された。

本発明は以下の態様を含み得る。

[ 1 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、前記抗体又は抗体フラグメントの重鎖の、1 2  
1、1 2 4、1 5 2、1 7 1、1 7 4、2 5 8、2 9 2、3 3 3、3 3 4、3 6 0、3 7  
5 及び 3 9 2 位から選択される部位において、その定常領域上の 1 つ以上のアミノ酸のシ  
ステインによる置換を含み、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、  
イムノコンジュゲート。

[ 2 ]

前記 1 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換が、1 2 1、1 2 4、1 5 2、2 5 8、3 3 4、3 6 0 及び 3 9 2 位から選択される、請求項 1 に記載のイムノコンジュゲート。

[ 3 ]

前記抗体又は抗体フラグメントが、配列番号 4、5、1 0、1 7、1 8、2 9、3 5、4 2、4 3、4 8、5 0、5 4、2 9 0、2 9 1、2 9 2、2 9 3、2 9 4 及び 2 9 5 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載のイムノコンジュゲート。

[ 4 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の、1 0 7、1 0 8、1 4 2、1 4 5、1 5 9、1 6 1 及び 1 6 5 位から選択される部位において、その定常領域上の 1 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含み、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカップ軽鎖である、イムノコンジュゲート。

[ 5 ]

前記 1 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換が、1 4 5 又は 1 6 5 位から選択される、請求項 4 に記載のイムノコンジュゲート。

[ 6 ]

前記抗体又は抗体フラグメントが、配列番号 6 1、6 2、6 9、7 1、7 5、7 6 及び 7 7 からなる群から選択される配列を含む、請求項 4 に記載のイムノコンジュゲート。

[ 7 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の、1 4 3、1 4 7、1 5 9、1 6 3 及び 1 6 8 位から選択される部位において、その定常領域上の 1 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含み、前記位置が、K a b a t システムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトラムダ軽鎖である、イムノコンジュゲート。

[ 8 ]

前記抗体又は抗体フラグメントが、配列番号 9 2、9 4、9 6、9 7 及び 9 8 からなる群から選択される配列を含む、請求項 7 に記載のイムノコンジュゲート。

[ 9 ]

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の、1 0 7、1 0 8、1 4 2、1 4 5、1 5 9、1 6 1 及び 1 6 5 位から選択される部位において、その定常領域上の 1 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換をさらに含み、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカップ軽鎖である、請求項 1、2 又は 3 に記載のイムノコンジュゲート。

[ 1 0 ]

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の、1 4 3、1 4 7、1 5 9、1 6 3 及び 1 6 8 位から選択されるその定常領域上の 1 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換をさらに含み、前記軽鎖位置が、K a b a t システムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカップ軽鎖である、請求項 1、2 又は 3 に記載のイムノコンジュゲート。

[ 1 1 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、1 5 2 及び 3 7 5 位又は 3 2 7 及び 3 7 5 位において、重鎖の定常領域上の 2 つ以上のアミノ酸のシステインによる置換の組み合わせを含み、前記位置が、E U システムに基づいて番号付けされている、イムノコンジュゲート。

[ 1 2 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、軽鎖の107位及び重鎖の360位を含むその定常領域上の2つ以上のアミノ酸のシステインによる置換の組み合わせを含み、前記軽鎖が、カッパ鎖であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、イムノコンジュゲート。

[ 1 3 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、前記抗体又は抗体フラグメントの重鎖の、117、119、121、124、139、152、153、155、157、164、169、171、174、189、205、207、246、258、269、274、286、288、290、292、293、320、322、326、333、334、335、337、344、355、360、375、382、390、392、398、400及び422位から選択されるその定常領域上の1つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含み、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、イムノコンジュゲート。

[ 1 4 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の、107、108、109、114、129、142、143、145、152、154、156、159、161、165、168、169、170、182、183、197、199及び203位から選択されるその定常領域上の1つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含み、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカッパ軽鎖である、イムノコンジュゲート。

[ 1 5 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又は抗体フラグメントが、前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖のその定常領域上の、143、145、147、156、159、163、168位から選択される1つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含み、前記位置が、Kabatsシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトラムダ軽鎖である、イムノコンジュゲート。

[ 1 6 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又はその抗体フラグメントが、その定常領域上の2つ以上のアミノ酸のシステインによる置換の組み合わせを含み、前記組み合わせが、抗体重鎖の375位及び抗体軽鎖の165位、又は、抗体重鎖の334位、抗体軽鎖の165位における置換を含み、前記軽鎖が、カッパ鎖であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、イムノコンジュゲート。

[ 1 7 ]

薬剤抗体比が、約4である、請求項11、12及び16のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

[ 1 8 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、

前記修飾抗体又はその抗体フラグメントが、その定常領域上の3つ以上のアミノ酸のシステインによる置換の組み合わせを含み、前記組み合わせが、

a . 抗体重鎖の375及び392位並びに抗体軽鎖の165位、

b . 抗体重鎖の334及び375位並びに抗体軽鎖の165位、並びに

c . 抗体重鎖の334及び392位並びに抗体軽鎖の165位

から選択される置換を含み、前記軽鎖が、カッパ鎖であり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、イムノコンジュゲート。

[ 1 9 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、  
前記修飾抗体又はその抗体フラグメントが、その定常領域上の3つ以上のアミノ酸のシ  
ステインによる置換の組み合わせを含み、前記組み合わせが、  
a. 抗体重鎖の152、375及び392位、  
b. 抗体重鎖の152、334及び375位、並びに  
c. 抗体重鎖の152、334及び392位  
から選択される置換を含み、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、  
イムノコンジュゲート。

[ 2 0 ]

薬剤抗体比が、約6である、請求項18又は19に記載のイムノコンジュゲート。

[ 2 1 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、  
前記修飾抗体又はその抗体フラグメントが、その定常領域上の4つ以上のアミノ酸のシ  
ステインによる置換の組み合わせを含み、前記組み合わせが、抗体重鎖の334、375  
及び392位並びに抗体軽鎖の165位、又は、抗体重鎖の333、375及び392位  
並びに抗体軽鎖の165位における置換を含み、前記軽鎖が、カップ鎖であり、前記位置  
が、EUシステムに基づいて番号付けされている、イムノコンジュゲート。

[ 2 2 ]

修飾抗体又はその抗体フラグメントを含むイムノコンジュゲートであって、  
前記修飾抗体又はその抗体フラグメントが、その定常領域上の4つ以上のアミノ酸のシ  
ステインによる置換の組み合わせを含み、前記組み合わせが、抗体重鎖の152、334  
、375及び392位、又は、抗体重鎖の152、333、375及び392位における  
置換を含み、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、イムノコンジュ  
ゲート。

[ 2 3 ]

薬剤抗体比が、約8である、請求項21又は22に記載のイムノコンジュゲート。

[ 2 4 ]

さらに、薬剤部分を含む、請求項1から23のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲ  
ート。

[ 2 5 ]

薬剤部分が、前記システインの硫黄及び任意のリンカーを介して、前記修飾抗体又は抗  
体フラグメントに付着している、請求項24に記載のイムノコンジュゲート。

[ 2 6 ]

前記薬剤部分が、開裂性又は非開裂性のリンカーを介して、前記システインの前記硫黄  
に結合している、請求項25に記載のイムノコンジュゲート。

[ 2 7 ]

前記薬剤部分が、非開裂性のリンカーを介して、前記システインの前記硫黄に結合して  
いる、請求項25に記載のイムノコンジュゲート。

[ 2 8 ]

前記イムノコンジュゲートが、チオール-マレイミド結合を含む、請求項25に記載の  
イムノコンジュゲート。

[ 2 9 ]

前記イムノコンジュゲートが、 $-S-CH_2-C(=O)-$ 結合又はジスルフィド結合  
を含む、請求項25に記載のイムノコンジュゲート。

[ 3 0 ]

前記薬剤部分が、細胞傷害剤である、請求項25から29のいずれか一項に記載のイム  
ノコンジュゲート。

[ 3 1 ]

前記薬剤部分が、タキサン、DNAアルキル化剤(例えば、CC-1065類似体)、  
アントラサイクリン、チュープリシン類似体、デュオカルマイシン類似体、オーリスタチ

ンE、オーリスタチンF及びメイタンシノイドからなる群から選択される、請求項30に記載のイムノコンジュゲート。

[32]

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項1から31のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

[33]

前記抗体が、キメラ抗体である、請求項1から31のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

[34]

前記抗体が、ヒト化抗体又は完全ヒト抗体である、請求項31に記載のイムノコンジュゲート。

[35]

前記抗体が、二重特異性抗体又は多重特異性抗体である、請求項31に記載のイムノコンジュゲート。

[36]

前記抗体又は抗体フラグメントが、腫瘍に特有の細胞表面マーカーに特異的に結合する、請求項1から32のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲート。

[37]

請求項1から36のいずれか一項に記載のイムノコンジュゲートを含む医薬組成物。

[38]

修飾抗体又はその抗体フラグメントであって、

前記抗体又は抗体フラグメントの重鎖の、117、119、121、124、139、152、153、155、157、164、169、171、174、189、205、207、246、258、269、274、286、288、290、292、293、320、322、326、333、334、335、337、344、355、360、375、382、390、392、398、400及び422位から選択されるその定常領域上の1つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含み、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、修飾抗体又はその抗体フラグメント。

[39]

修飾抗体又はその抗体フラグメントであって、

前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の、107、108、109、114、129、142、143、145、152、154、156、159、161、165、168、169、170、182、183、197、199及び203位から選択されるその定常領域上の1つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含み、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカッパ軽鎖である、修飾抗体又はその抗体フラグメント。

[40]

修飾抗体又はその抗体フラグメントであって、

前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖のその定常領域上の、143、145、147、156、159、163、168位から選択されるその定常領域上の1つ以上のアミノ酸のシステインによる置換を含み、前記位置が、Kabatシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトラムダ軽鎖である、修飾抗体又はその抗体フラグメント。

[41]

前記置換が、前記重鎖の121、124、152、171、174、258、292、333、360及び375位から選択される少なくとも1つのシステインであり、前記位置が、EUシステムに基づいて番号付けされている、請求項38に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[42]

前記置換が、2～6個のシステインであり、前記システインが、重鎖の121、124、152、171、174、258、292、333、360及び375から選択される

位置にあり、前記位置が、E Uシステムに基づいて番号付けされている、請求項38に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[ 4 3 ]

前記置換が、軽鎖の107、108、142、145、159、161及び165位から選択される少なくとも1つのシステインであり、前記位置が、E Uシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカップ軽鎖である、請求項39に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[ 4 4 ]

前記置換が、2～6個のシステインであり、前記システインが、軽鎖の107、108、142、145、159、161及び165位から選択される位置にあり、前記位置が、E Uシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトカップ軽鎖である、請求項39に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[ 4 5 ]

前記置換が、軽鎖の143、147、159、163及び168位から選択される少なくとも1つのシステインであり、前記位置が、K a b a tシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトラムダ軽鎖である、請求項40に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[ 4 6 ]

前記置換が、2～6個のシステインであり、前記システインが、軽鎖の143、147、159、163及び168位から選択される位置にあり、前記位置が、K a b a tシステムに基づいて番号付けされており、前記軽鎖が、ヒトラムダ軽鎖である、請求項38に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[ 4 7 ]

さらに、薬剤部分に付着し、前記薬剤部分が、前記システインの硫黄及び任意のリンカーを介して、前記修飾抗体又は抗体フラグメントに付着している、請求項11、12、14から22、38から47のいずれか一項に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[ 4 8 ]

前記薬剤部分が、リンカーユニットを介して、前記システインの硫黄に付着している、請求項47に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[ 4 9 ]

少なくとも1つのP c l若しくは非天然アミノ酸置換若しくは酵素媒介性コンジュゲート化用のペプチドタグ及び/又はそれらの組み合わせをさらに含む、請求項38から48のいずれか一項に記載の修飾抗体又は抗体フラグメント。

[ 5 0 ]

請求項38から49のいずれか一項に記載の修飾抗体又は抗体フラグメントをコードする核酸。

[ 5 1 ]

請求項50に記載の核酸を含む宿主細胞。

[ 5 2 ]

修飾抗体又は抗体フラグメントを製造する方法であって、

請求項49に記載の宿主細胞を、前記抗体又は抗体フラグメントを発現させるのに適した条件下でインキュベートすること、及び、前記抗体又は抗体フラグメントを単離することを含む、方法。

[ 5 3 ]

システインによる置換に適した抗体のアミノ酸を選択して、コンジュゲート化に適した部位を提供する方法であって、

(1)適切な表面露出を有する前記抗体の定常領域中のアミノ酸を特定して、初期候補部位のセットを提供することと、

(2)各初期候補部位について、その部位における天然アミノ酸がシステインにより置換されている抗体を発現させることと、

( 3 ) 発現した各抗体について、発現したタンパク質が、還元及び再酸化後に実質的に均一であるかどうかを決定して、前記初期候補部位に遊離システインを有する機能的な抗体を提供することと、

( 4 ) 実質的に均一で、機能的な発現した各タンパク質について、前記初期候補部位におけるシステインをマレイミド部分とコンジュゲートさせて、チオール - マレイミド結合がその部位において不安定化されているかどうかを決定することと、

( 5 ) 前記発現した抗体が実質的に均一でなく、機能的でない初期候補部位、及び、前記チオール - マレイミド結合が不安定化されている初期候補部位を、前記初期候補部位のセットから除去して、システイン置換に有益な部位のセットを提供することと、を含む、方法。

[ 5 4 ]

各有益なシステイン置換部位のコンジュゲートについての融解温度を測定し、システイン置換及びコンジュゲート化によって前記融解温度が親抗体の融解温度と 5 以上異なっている部位を前記セットから除去する工程をさらに含む、請求項 5 3 に記載の方法。

[ 5 5 ]

特定された置換部位の 1 つ以上にシステインを含む抗体又は抗体フラグメントを製造することをさらに含む、請求項 5 3 又は 5 4 に記載の方法。

[ 5 6 ]

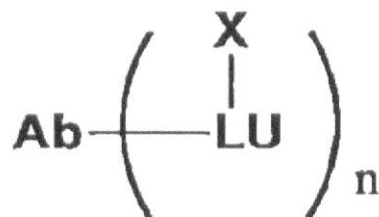
イムノコンジュゲートを製造するための方法であって、

リンカーユニット ( LU ) 又はリンカーユニット - ペイロードの組み合わせ ( - LU - X ) を、抗体又は抗体フラグメント中のシステイン残基に付着させることを含み、前記システインが、前記抗体又は抗体フラグメントの重鎖の、 1 2 1、 1 2 4、 1 5 2、 1 7 1、 1 7 4、 2 5 8、 2 9 2、 3 3 3、 3 6 0 及び 3 7 5 位、並びに、前記抗体又は抗体フラグメントの軽鎖の、 1 0 7、 1 0 8、 1 4 2、 1 4 5、 1 5 9、 1 6 1 及び 1 6 5 位から選択されるシステイン置換部位に位置し、前記位置が、 E U システムに基づいて番号付けされている、方法。

[ 5 7 ]

前記イムノコンジュゲートが、式 ( I ) :

【化 5 3】



で表されるものであり、

式中、 A b は、本願明細書に記載された好ましいシステイン置換部位の 1 つに、少なくとも 1 つのシステイン残基を含む抗体又は抗体フラグメントを表し、

LU は、本願明細書に記載されたリンカーユニットであり、

X は、ペイロード又は薬剤部分であり、

n は、 1 ~ 1 6 の整数である、請求項 5 6 に記載の方法。