

【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30年8月30日(2018.8.30)

【公表番号】特表2017-526652(P2017-526652A)

【公表日】平成29年9月14日(2017.9.14)

【年通号数】公開・登録公報2017-035

【出願番号】特願2017-503957(P2017-503957)

【国際特許分類】

C 0 7 K 1/113 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 K 31/7088 (2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 A 6 1 K 38/02 (2006.01)
 A 6 1 K 51/00 (2006.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 31/439 (2006.01)
 A 6 1 K 31/36 (2006.01)
 A 6 1 K 31/337 (2006.01)
 A 6 1 K 31/395 (2006.01)
 A 6 1 K 31/537 (2006.01)
 A 6 1 K 38/08 (2006.01)
 C 0 7 K 16/00 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 1/113
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 31/7088
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 K 38/02
 A 6 1 K 51/00 1 0 0
 A 6 1 K 47/68
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 31/439
 A 6 1 K 31/36
 A 6 1 K 31/337
 A 6 1 K 31/395
 A 6 1 K 31/537
 A 6 1 K 38/08
 A 6 1 K 39/395 C
 A 6 1 K 39/395 L
 C 0 7 K 16/00

【手続補正書】

【提出日】平成30年7月17日(2018.7.17)

【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】

薬剤の、少なくとも1つのジスルフィド結合及び少なくとも1つのトリスルフィド結合を含むタンパク質中のチオール部分へのコンジュゲーション方法であって、

(a) 単離されたタンパク質中の少なくとも1つのスルフィド結合を還元して、反応性スルフィド及び少なくとも1つのチオール基を含む還元されたタンパク質を含む組成物を形成するステップと、

(b) 前記組成物中の前記反応性スルフィドの含有量を減少させるステップと、

(c) 薬剤を前記還元されたタンパク質の前記少なくとも1つのチオール基にコンジュゲートして、タンパク質-薬剤コンジュゲートを形成するステップと、を含む、前記方法。

【請求項 2】

前記還元ステップが、前記単離されたタンパク質の還元剤との接触による前記少なくとも1つのスルフィド結合の少なくとも部分的な還元を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記単離されたタンパク質が少なくとも4つのジスルフィド結合を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記単離されたタンパク質が少なくとも2つのトリスルフィド結合を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記還元ステップ前に、前記単離されたタンパク質中の前記スルフィド結合の約1%～約20%がトリスルフィド結合である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記還元ステップ前に、前記単離されたタンパク質中の前記スルフィド結合の約5%～約7%がトリスルフィド結合である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記還元ステップが非変性条件下で行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記還元剤が、ジチオスレイトール(DTT)、ベータ-メルカプトエタノール(ME)、トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン(TCEP)、システイン、L-システイン、還元グルタチオン(GSH)、及びL-GSHのうちの少なくとも1つである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記還元剤がTCEPである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記TCEPが、前記単離されたタンパク質に対するTCEPの所定のモル比で前記単離されたタンパク質と混合される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記単離されたタンパク質に対するTCEPの前記所定のモル比が、TCEPのモル過剰を含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記還元ステップが、前記単離されたタンパク質を約0.1～約8mMの濃度の化学的還元剤と接触させることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記還元ステップが、約pH7.0未満のpHで行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

前記還元ステップが、約4.5～約6.5のpHで行われる、請求項 13 に記載の方法。

。

【請求項 15】

前記還元ステップが、約 5.5 の pH で行われる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記還元ステップが、約 6.5 の pH で行われる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

前記還元ステップ前に、前記単離されたタンパク質の pH が、約 pH 5.0 ~ 約 pH 8.0 の pH に調整される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

前記タンパク質中の前記トリスルフィド結合の約 100% が還元される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 19】

前記還元ステップ後に、単離されたタンパク質 1 モル還元につき約 4 ~ 約 8 モルのチオール部分が、前記薬剤とのコンジュゲーションに利用可能である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 20】

前記減少ステップが、前記組成物の pH を約 5.0 ~ 約 6.0 の pH に調整することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 21】

前記組成物の pH が約 pH 5.5 に調整される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記減少ステップが、前記組成物から液体媒体を除去することと、前記液体媒体を代替液体媒体と置き換えることと、を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 23】

前記液体媒体が緩衝液を含む、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記減少ステップが、

(a) 前記組成物中の前記還元されたタンパク質を固体支持体と会合させることと、

(b) 前記組成物の少なくとも 90% を、前記反応性スルフィドを欠く代替溶液と置き換えることと、を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 25】

前記固体支持体が、濾過膜、選択性透過膜、及びクロマトグラフィー樹脂のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記減少ステップが、前記組成物中の前記反応性スルフィドの含有量を低減するのに十分な速度で、前記還元ステップにおける前記組成物を混合することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 27】

前記混合が、前記単離されたタンパク質中のスルフィド結合（複数可）の還元にとっての最適混合速度を超える増大した速度で前記組成物を攪拌することを含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

増大した速度での前記混合が、前記還元ステップの全反応時間未満の期間にわたって前記還元ステップにおける前記混合速度を増大させることを含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記減少ステップが、前記溶液を窒素源と接触させることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 30】

前記窒素源が窒素ガスを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記接触が、窒素ガスを前記組成物に通気させることを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 32】

前記接触が、前記組成物を、窒素ガス、空気、及びアルゴンガスのうちの少なくとも 1 つでスパーズすることを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 33】

前記接触が、約 1 分間～約 240 分間の期間行われる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 34】

前記接触が、約 10 立法センチメートル/分～約 60 立法センチメートル/分の速度で、前記組成物を窒素ガスでスパーズすることを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 35】

前記接触が、前記還元ステップにとっての前記最適混合速度を少なくとも 200% 超える速度で、窒素ガスの存在下で前記組成物を混合することを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 36】

前記接触が、約 5.0～約 8.0 の pH で行われる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 37】

前記接触が、約 4～約 40 の温度で行われる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 38】

前記接触が、約 15～約 40 の温度で行われる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 39】

前記接触が、約 20 の温度で行われる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 40】

前記接触が、約 30～の温度で行われる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 41】

前記組成物の体積に対する表面積の比率が約 2 である、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 42】

前記接触が、前記組成物を含有する反応容器の側面に対して窒素ガスをパイプ供給することを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 43】

前記接触が、前記組成物中にスパーズストーンを浸すことを含み、前記スパーズストーンが、約 1 cm～約 1メートルの直径を有する、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 44】

前記接触が、前記還元ステップ中に、前記還元ステップを行う時間未満の時間にわたって窒素ガスを前記組成物に導入することを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 45】

前記接触が閉鎖反応容器内で行われる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 46】

前記接触が開放反応容器内で行われ、反応性スルフィドが前記組成物から放出される、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 47】

前記接触が、前記組成物を含有する容器を、窒素ガス、アルゴン、及び空気のうち少なくとも 1 つでスパーズすることを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 48】

前記接触が、tween 及び消泡剤のうち少なくとも一方の存在下で行われる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 49】

前記 tween が、Tween-20 及び Tween-80 のうちの少なくとも一方である、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

前記消泡剤が、Anti foam - A、Anti foam - C、及びボロキサマーのうちの少なくとも1つである、請求項48に記載の方法。

【請求項51】

前記単離されたタンパク質が抗体または抗体断片である、請求項1に記載の方法。

【請求項52】

前記抗体断片が抗原結合抗体断片である、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

前記抗体断片が、Fab、Fab'、F(ab)₂、Fv断片、ダイアボディ、一本鎖抗体、scFv断片、またはscFv-Fcである、請求項51に記載の方法。

【請求項54】

前記抗体または前記抗体断片がIgG抗体である、請求項51に記載の方法。

【請求項55】

前記抗体または前記抗体断片がヒトモノクローナル抗体である、請求項51に記載の方法。

【請求項56】

前記抗体または前記抗体断片がヒト免疫グロブリン定常領域を含む、請求項51に記載の抗体。

【請求項57】

前記抗体または前記抗体断片がヒトIgG定常領域を含む、請求項51に記載の方法。

【請求項58】

前記IgG定常領域のアイソタイプが、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4である、請求項57に記載の方法。

【請求項59】

前記IgG定常領域の前記アイソタイプがIgG1である、請求項58に記載の方法。

【請求項60】

前記抗体または前記抗体断片中のスルフィド結合が、抗体重鎖と抗体軽鎖との間、または抗体重鎖間、または抗体重鎖と抗体軽鎖との間及び抗体重鎖間の両方に存在する、請求項51に記載の方法。

【請求項61】

前記抗体または前記抗体断片が軽鎖定常ドメインを含む、請求項51に記載の方法。

【請求項62】

前記軽鎖定常ドメインがカッパ定常ドメインである、請求項61に記載の方法。

【請求項63】

前記抗体が、重鎖を連結するヒンジ領域内に2つのスルフィド結合、ならびに軽鎖と重鎖との間に各々1つのスルフィド結合を含む4つの鎖間スルフィド結合を有するIgG1モノクローナル抗体である、請求項51に記載の方法。

【請求項64】

前記単離されたタンパク質が抗体であり、前記還元ステップが鎖間ジスルフィド結合のみの還元をもたらし、鎖内結合の還元はもたらさない、請求項1に記載の方法。

【請求項65】

前記薬剤が、化学療法剤、核酸、サイトカイン、免疫抑制剤、放射性同位体、抗生物質、及び治療抗体から選択される少なくとも1つの治療薬である、請求項1に記載の方法。

【請求項66】

前記治療薬が化学療法剤である、請求項65に記載の方法。

【請求項67】

前記化学療法剤が、オーリスタチン、ピンカアルカロイド、ポドフィロトキシン、タキサン、パッカチン誘導体、クリプトフィシン、メイタンシノイド、コンプレタスタチン、及びドラスタチンから選択される少なくとも1つの抗チューブリン剤である、請求項66に記載の方法。

【請求項68】

前記化学療法剤が、オーリスタチン、DNA副溝結合剤、DNA副溝アルキル化剤、エンジン、レキシトロブシン、デュオカルマイシン、タキサン、ピューロマイシン、ドラスタチン、メイタンシノイド、及びピンカアルカロイドのうちの少なくとも1つである、請求項66に記載の方法。

【請求項69】

前記化学療法剤がドラスタチンである、請求項68に記載の方法。

【請求項70】

前記ドラスタチンがオーリスタチンである、請求項69に記載の方法。

【請求項71】

前記オーリスタチンがMMAEまたはMMAFである、請求項70に記載の方法。

【請求項72】

前記薬剤が、前記還元されたタンパク質の前記少なくとも1つのチオール基を前記薬剤に連結するように適合されたリンカー部分を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項73】

前記リンカー部分が、切断可能なリンカーである、請求項72に記載の方法。

【請求項74】

前記リンカー部分が、切断不可能なリンカーである、請求項72に記載の方法。

【請求項75】

前記リンカー部分が、細胞内条件下で切断されやすいリンカーである、請求項72に記載の方法。

【請求項76】

前記リンカー部分が、細胞内プロテアーゼによって切断可能なペプチドリリンカーである、請求項72に記載の方法。

【請求項77】

前記細胞内プロテアーゼが、リソソームプロテアーゼまたはエンドソームプロテアーゼである、請求項72に記載の方法。

【請求項78】

前記リンカー部分が、ジペプチドリリンカーである、請求項72に記載の方法。

【請求項79】

前記ジペプチドリリンカーが、バリン-シトルリン(val-cit)またはフェニルアラニン-リジン(phe-lys)リンカーである、請求項78に記載の方法。

【請求項80】

前記ジペプチドリリンカーが、遊離チオールと反応して共有結合を形成するマレイミド官能基である、請求項78に記載の方法。

【請求項81】

前記タンパク質-薬剤コンジュゲートが、aCD22-val-cit-MMAE、aCD22-val-cit-MMAF、aLy6E-val-cit-MMAE、aLy6E-val-cit-MMAF、aCD79b-val-cit-MMAE、aCD79b-val-cit-MMAF、aNAPi2b-val-cit-MMAE、aNAPi2b-val-cit-MMAF、aMUC16-val-cit-MMAE、MUC16-val-cit-MMAF、sSTEAP1、及びaETBRのうちの1つである、請求項1に記載の方法。

【請求項82】

単離された抗体中のトリスルフィド結合のジスルフィド結合への変換方法であって、
(a) 溶液中で、少なくとも1つのトリスルフィド結合を含む少なくとも1つの単離された抗体を、約pH5.0~約pH8のpHのTCEPで還元するステップと、
(b) 前記溶液を窒素ガスと接触させるステップと、
(c) オーリスタチンまたはその誘導体を前記還元された抗体にコンジュゲートして、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を形成するステップと、を含む、前記方法。

【請求項83】

前記還元ステップが、前記単離されたタンパク質を約 0.5 ~ 約 8 mM の濃度の化学的還元剤と接触させることを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記単離されたタンパク質に対する T C E P のモル比が約 3 : 1 である、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記接触が、窒素ガスを前記組成物に通気させることを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記接触が、少なくとも約 30 分間行われる、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記接触が、約 50 立法センチメートル / 分の速度で、前記組成物を窒素ガスでスパージすることを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記接触が、前記還元ステップにとっての前記最適混合速度を約 300 % 超える速度で、前記組成物を窒素ガスの存在下で混合することを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記接触が、約 5.5 ~ 約 7.5 の pH で行われる、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記接触が、約 20 ~ 約 30 の温度で行われる、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 1】

前記組成物の体積に対する表面積の比率が約 2 である、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 2】

前記接触が、前記組成物を含有する反応容器の側面に対して窒素ガスをパイプ供給することを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 3】

前記接触が、前記組成物中にスパージストーンを浸すことを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記接触が、窒素ガスを前記組成物に約 30 分間導入することを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記接触が閉鎖反応容器内で行われる、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記接触が開放反応容器内で行われ、硫化水素が前記組成物から放出される、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記接触が、前記組成物を含有する容器を前記窒素ガスでスパージすることを含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 8】

前記接触が、t w e e n 及び消泡剤のうちの少なくとも一方の存在下で行われる、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 9】

前記 t w e e n が、T w e e n - 20 及び T w e e n - 80 のうちの少なくとも一方である、請求項 9 8 に記載の方法。

【請求項 100】

前記消泡剤が、A n t i f o a m - A、A n t i f o a m - C、及びポロキサマーのうちの少なくとも1つである、請求項 9 8 に記載の方法。

【請求項 101】

前記抗体が抗体断片である、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 102】

前記抗体断片が抗原結合抗体断片である、請求項 101 に記載の方法。

【請求項 103】

前記抗体断片が、Fab、Fab'、F(ab)₂、Fv断片、ダイアボディ、一本鎖抗体、scFv断片、またはscFv-Fcである、請求項 102 に記載の方法。

【請求項 104】

前記抗体がIgG抗体である、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 105】

前記抗体がヒトモノクローナル抗体である、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 106】

前記抗体がヒト免疫グロブリン定常領域を含む、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 107】

前記抗体がヒトIgG定常領域を含む、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 108】

前記IgG定常領域のアイソタイプが、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4である、請求項 107 に記載の方法。

【請求項 109】

前記IgG定常領域の前記アイソタイプがIgG1である、請求項 108 に記載の方法。

【請求項 110】

前記抗体中のスルフィド結合が、抗体重鎖と抗体軽鎖との間、または抗体重鎖間、または抗体重鎖と軽鎖抗体との間及び抗体重鎖間の両方に存在する、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 111】

前記抗体が軽鎖定常ドメインを含む、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 112】

前記軽鎖定常ドメインがカッパ定常ドメインである、請求項 111 に記載の方法。

【請求項 113】

前記抗体が、重鎖を連結するヒンジ領域内に2つのスルフィド結合、ならびに軽鎖と重鎖との間に各々1つのスルフィド結合を含む4つの鎖間スルフィド結合を有するIgG1モノクローナル抗体である、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 114】

前記還元ステップが鎖間ジスルフィド結合のみを還元し、鎖内結合は還元しない、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 115】

前記オーリスタチンがMMAEまたはMMAFである、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 116】

前記治療薬が、前記抗体の前記少なくとも1つのチオール基を前記治療薬に連結するように適合されたリンカー部分を含む、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 117】

前記リンカー部分が、切断可能なリンカーである、請求項 116 に記載の方法。

【請求項 118】

前記リンカー部分が、切断不可能なリンカーである、請求項 116 に記載の方法。

【請求項 119】

前記リンカー部分が、細胞内条件下で切断されやすいリンカーである、請求項 116 に記載の方法。

【請求項 120】

前記リンカー部分が、細胞内プロテアーゼによって切断可能なペプチドリンカーである、請求項 116 に記載の方法。

【請求項 121】

前記細胞内プロテアーゼが、リソソームプロテアーゼまたはエンドソームプロテアーゼである、請求項 1 2 0 に記載の方法。

【請求項 1 2 2】

前記リンカー部分が、ジペプチドリンカーである、請求項 1 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 2 3】

前記ジペプチドリンカーが、バリン - シトルリン (v a l - c i t) またはフェニルアラニン - リジン (p h e - l y s) リンカーである、請求項 1 2 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 4】

前記ジペプチドリンカーが、遊離チオールと反応して共有結合を形成するマレイミド官能基である、請求項 1 2 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 5】

前記オーリスチンの二量体またはその誘導体が、前記コンジュゲートステップで形成され、前記方法が、前記 A D C を前記二量体から分離して、精製された A D C を形成することをさらに含む、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記抗体 - 治療薬コンジュゲートが、 a C D 2 2 - v a l - c i t - M M A E、 a C D 2 2 - v a l - c i t - M M A F、 a L y 6 E - v a l - c i t - M M A E、 a L y 6 E - v a l - c i t - M M A F、 a C D 7 9 b - v a l - c i t - M M A E、 a C D 7 9 b - v a l - c i t - M M A F、 a N a P i 2 b - v a l - c i t - M M A E、 a N a P i 2 b - v a l - c i t - M M A F、 a M U C 1 6 - v a l - c i t - M M A E、 M U C 1 6 - v a l - c i t - M M A F、 s S T E A P 1、及び a E T B R のうちの 1 つである、請求項 8 2 に記載の方法。