(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-525565
(P2023-525565A)
(43)公表日　令和5年6月16日(2023.6.16)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*38/20*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/20	ＺＮＡ	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*47/26*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/26		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*47/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/12		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｋ	*47/14*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/14		
Ａ６１Ｋ	*47/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/02		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全34頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-568912(P2022-568912)
(86)(22)出願日　令和3年5月10日(2021.5.10)
(85)翻訳文提出日　令和5年1月5日(2023.1.5)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/031611
(87)国際公開番号　WO2021/231316
(87)国際公開日　令和3年11月18日(2021.11.18)
(31)優先権主張番号　63/022,853
(32)優先日　令和2年5月11日(2020.5.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　512274344
アルカームス ファーマ アイルランド リミテッド
アイルランド国 ダブリン ４ バーリントン ロード １ コノート ハウス
(74)代理人　100108453
弁理士　村山 靖彦
(74)代理人　100110364
弁理士　実広 信哉
(74)代理人　100133400
弁理士　阿部 達彦
(72)発明者　タレク・エー・ゼイダーン
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・０２４２０・レキシントン・ローウェル・ストリート・４９９
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＩＬ－２融合ポリペプチド組成物ならびにその作製及び使用方法

(57)【要約】
本明細書において、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換インターロイキン－２（ＩＬ－２）を含むポリペプチドを含む組成物、ならびにそのような組成物の作製及び使用方法が提供される。

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ａ）ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２を含む約１ｍｇ～約５０ｍｇのポリペプチド、
ｂ）スクロース、
ｃ）クエン酸緩衝液、及び
ｄ）ポリソルベート２０、を含む、組成物。
【請求項２】
前記ポリペプチドが、配列番号１と少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
前記ポリペプチドが配列番号１のアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項４】
前記組成物が約２．２ｍｇの前記ポリペプチドを含む、請求項１～３のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項５】
前記組成物が約１１ｍｇの前記ポリペプチドを含む、請求項１～３のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項６】
前記組成物が約３３ｍｇの前記ポリペプチドを含む、請求項１～３のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項７】
前記組成物が約１００ｍｇ～約１２０ｍｇのスクロースを含む、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項８】
前記組成物が約１１０ｍｇのスクロースを含む、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項９】
前記組成物が約４．０ｍｇ～約６．０ｍｇのクエン酸アニオンを含む、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１０】
前記組成物が約５．０ｍｇのクエン酸アニオンを含む、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１１】
前記組成物が、約１：１０～約１：２のクエン酸：クエン酸三ナトリウム二水和物の質量比でクエン酸及びクエン酸三ナトリウム二水和物を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１２】
前記組成物が、約１：９のクエン酸：クエン酸三ナトリウム二水和物の質量比でクエン酸及びクエン酸三ナトリウム二水和物を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１３】
前記組成物が、約１：２のクエン酸：クエン酸三ナトリウム二水和物の質量比でクエン酸及びクエン酸三ナトリウム二水和物を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１４】
前記組成物が約０．２０ｍｇ～約０．２４ｍｇのポリソルベート２０を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１５】
前記組成物が約０．２２ｍｇのポリソルベート２０を含む、先行請求項のいずれか１項

に記載の組成物。
【請求項１６】
前記組成物が凍結乾燥ケーキである、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１７】
前記凍結乾燥ケーキを水に溶解すると、約５．５～約６．５のｐＨを有する水溶液が得られる、請求項１６に記載の組成物。
【請求項１８】
前記凍結乾燥ケーキを水に溶解すると、約６．１のｐＨを有する水溶液が得られる、請求項１７に記載の組成物。
【請求項１９】
前記凍結乾燥ケーキを水に溶解すると、約１６０～約２３０ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を有する水溶液が得られる、請求項１６～１８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２０】
前記凍結乾燥ケーキを水に溶解すると、約１７９ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を有する水溶液が得られる、請求項１９に記載の組成物。
【請求項２１】
前記凍結乾燥ケーキを塩化ナトリウム溶液に溶解すると、約２４０～約３４０ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を有する水溶液が得られる、請求項１６～１８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２２】
前記塩化ナトリウム溶液が約０．１％のＮａＣｌ～約０．５％のＮａＣｌを含む、請求項２１に記載の組成物。
【請求項２３】
前記塩化ナトリウム溶液が約０．１２％のＮａＣｌ～約０．４１％のＮａＣｌを含む、請求項２１に記載の組成物。
【請求項２４】
前記塩化ナトリウム溶液が約０．０２ＭのＮａＣｌ～約０．０７ＭのＮａＣｌを含む、請求項２１に記載の組成物。
【請求項２５】
前記組成物が水溶液である、請求項１～１５のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２６】
前記組成物が約１ｍｇ／ｍＬの前記ポリペプチドを含む、請求項２５に記載の組成物。
【請求項２７】
前記組成物が約２．２ｍｇの前記ポリペプチドを含む２．２ｍｌの水溶液である、請求項２６に記載の組成物。
【請求項２８】
前記組成物が約５ｍｇ／ｍＬの前記ポリペプチドを含む、請求項２５に記載の組成物。
【請求項２９】
前記組成物が、約１１ｍｇの前記ポリペプチドを含む２．２ｍｌの水溶液である、請求項２８に記載の組成物。
【請求項３０】
前記組成物が約１５ｍｇ／ｍＬの前記ポリペプチドを含む、請求項２５に記載の組成物。
【請求項３１】
前記組成物が、約３３ｍｇの前記ポリペプチドを含む２．２ｍｌの水溶液である、請求項３０に記載の組成物。
【請求項３２】
前記組成物が約４５ｍｇ／ｍＬ～約５５ｍｇ／ｍＬのスクロースを含む、請求項２５～３１のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３３】

前記組成物が約５０ｍｇ／ｍＬのスクロースを含む、請求項３２に記載の組成物。
【請求項３４】
前記組成物が約１０ｍＭ～約２０ｍＭのクエン酸緩衝液を含む、請求項２５～３３のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３５】
前記組成物が約１２ｍＭのクエン酸緩衝液を含む、請求項３４に記載の組成物。
【請求項３６】
前記クエン酸緩衝液が、前記水溶液中の２．０３ｍｇ／ｍＬのクエン酸三ナトリウム二水和物及び０．９７ｍｇ／ｍＬのクエン酸一水和物の組み合わせによって形成される、請求項２５～３５のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３７】
前記組成物が、約０．０９ｍｇ／ｍＬ～約０．１１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０を含む、請求項２５～３６のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３８】
前記組成物が約０．１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０を含む、請求項３７に記載の組成物。
【請求項３９】
前記組成物のｐＨが約５．５～約６．５である、請求項２５～３８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４０】
前記組成物のｐＨが約６．１である、請求項３６に記載の組成物。
【請求項４１】
前記組成物の重量オスモル濃度が、約１６０～約２３０ｍＯｓｍ／ｋｇである、請求項２５～４０のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４２】
前記組成物の重量オスモル濃度が、約１７９ｍＯｓｍ／ｋｇである、請求項４１に記載の組成物。
【請求項４３】
前記水溶液が、約０．０３ｍｇ／ｍＬの前記ポリペプチド～約０．２ｍｇ／ｍＬの前記ポリペプチドを含む、請求項２５～４２のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４４】
請求項２５～４４のいずれか１項に記載の組成物を凍結乾燥させることによって作製される、凍結乾燥組成物。
【請求項４５】
前記組成物が、単一単位用量の前記ポリペプチドである、先行請求項のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４６】
先行請求項のいずれか１項に記載の組成物を含む、製品。
【請求項４７】
ガラスバイアルである、請求項４６に記載の製品。
【請求項４８】
凍結乾燥組成物を作製する方法であって、請求項２５～４３のいずれか１項に記載の水溶液を凍結乾燥することを含む、前記方法。
【請求項４９】
水性組成物を作製する方法であって、請求項１６または４４に記載の組成物を水性溶媒に溶解することを含む、前記方法。
【請求項５０】
前記水性溶媒が注射用水を含む、請求項４９に記載の方法。
【請求項５１】
前記水性溶媒が塩化ナトリウム溶液を含む、請求項４９に記載の方法。

【請求項５２】
前記塩化ナトリウム溶液が、約０．１％のＮａＣｌ～約０．５％のＮａＣｌを含む、請求項５１に記載の方法。
【請求項５３】
前記塩化ナトリウム溶液が、約０．１２％のＮａＣｌ～約０．４１％のＮａＣｌを含む、請求項５１に記載の方法。
【請求項５４】
前記塩化ナトリウム溶液が、約０．０２ＭのＮａＣｌ～約０．０７ＭのＮａＣｌを含む、請求項５１に記載の方法。
【請求項５５】
水性組成物が、約２４０～約３４０ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を備える、請求項５１～５４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５６】
前記水性組成物のｐＨが約６．１に調整される、請求項４９～５５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５７】
前記水性組成物のｐＨが塩基で約６．１に調整される、請求項４９～５６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５８】
前記塩基が水酸化ナトリウムである、請求項５７に記載の方法。
【請求項５９】
前記水性組成物が、約１％（ｗ／ｗ）の界面活性剤を含む水溶液で更に希釈される、請求項４９～５８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６０】
前記界面活性剤がポリソルベート２０である、請求項５９に記載の方法。
【請求項６１】
前記水溶液が、約０．１％（ｗ／ｗ）のクエン酸一水和物、０．２％（ｗ／ｗ）のクエン酸三ナトリウム二水和物、及び９８．７％（ｗ／ｗ）の注射用水を更に含む、請求項５９に記載の方法。
【請求項６２】
対象においてナチュラルキラー細胞（ＮＫ）細胞を活性化する方法であって、有効量の請求項２５～４３のいずれか１項に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。
【請求項６３】
がんの治療を必要とする対象においてがんを治療する方法であって、有効量の請求項２５～４３のいずれか１項に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。
【請求項６４】
前記がんが、腎細胞癌、黒色腫、卵巣癌、または肺癌である、請求項６３に記載の方法。
【請求項６５】
前記がんが、難治性固形腫瘍を含む、請求項６３または６４に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２０年５月１１日に出願された米国仮出願第６３／０２２，８５３号の利益を主張するものであり、その全開示は参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
本開示は、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換インターロイキン－２（ＩＬ－２）を含むポリペプチドを含む組成物、及びそのような組成物の作成及び使用方法に

関する。
【背景技術】
【０００３】
ＩＬ－２Ｒα鎖インターロイキン－２（ＩＬ－２）インターロイキン－２受容体アルファ（ＩＬ－２Ｒα）の細胞外部分に融合した循環置換インターロイキン－２（ＩＬ－２）を含むポリペプチドは、抗がん剤として非常に有望である。これらのポリペプチドは、記憶ＣＤ８＋Ｔ細胞及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞上で発現される中間親和性ＩＬ－２Ｒ複合体を通してシグナル伝達する完全な能力を保持するが、ＣＤ４＋　ＦＯＸＰ３＋調節Ｔ細胞（ＣＤ４＋Ｔｒｅｇ）及び内皮細胞上で優先的に発現される高親和性ＩＬ－２Ｒ複合体への結合が立体的に防止される。この選択的ＩＬ－２Ｒ結合の結果として、ポリペプチドは、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びＮＫ細胞を選択的に活性化し、それによって腫瘍細胞殺傷を促進する。内皮細胞上で高親和性ＩＬ－２Ｒを活性化できないことはまた、ＩＬ－２療法の既知のリスクである毛細血管漏出症候群に起因する毒性のリスクを低減し得る。
【０００４】
ヒト対象の治療のために使用する場合、前述のポリペプチドを使用前に保管し、投与地点に輸送しなければならない。対象において所望のレベルのポリペプチドを再現可能に達成するには、ポリペプチドをポリペプチドの生物活性を維持する製剤中に保存する必要がある。したがって、当該技術分野において、ポリペプチドの安定した組成物に対する必要性が存在する。好ましくは、このような組成物は、長い貯蔵寿命を示し、貯蔵及び輸送時に安定である。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００５】
【特許文献１】米国仮出願第６３／０２２，８５３号
【発明の概要】
【０００６】
本開示は、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２を含むポリペプチドを含む組成物、ならびにそのような組成物の作製及び使用方法を提供する。これらの組成物は、その中に含まれるポリペプチドの安定性及び貯蔵寿命を改善するために特に製剤化される。
【０００７】
一態様において、本開示は、
ａ）ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２を含む約１ｍｇ～約５０ｍｇのポリペプチド、
ｂ）スクロース、
ｃ）クエン酸緩衝液、及び
ｄ）ポリソルベート２０、を含む、組成物を提供する。
【０００８】
特定の実施形態において、ポリペプチドは、配列番号１と少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列からなる。
【０００９】
特定の実施形態において、組成物は、約１００ｍｇ～約１２０ｍｇのスクロースを含む。特定の実施形態において、組成物は、約１１０ｍｇのスクロースを含む。
【００１０】
特定の実施形態において、組成物は、約４．０ｍｇ～約６．０ｍｇのクエン酸塩を含む。特定の実施形態において、組成物は、約５．０ｍｇのクエン酸塩を含む。特定の実施形態において、クエン酸緩衝液は、水溶液中における２．０３ｍｇ／ｍＬのクエン酸三ナトリウム二水和物及び０．９７ｍｇ／ｍＬのクエン酸一水和物の組み合わせによって形成さ

れる。特定の実施形態において、クエン酸緩衝液は、水溶液中における２．９１ｍｇ／ｍＬのクエン酸三ナトリウム二水和物及び０．３４ｍｇ／ｍＬのクエン酸一水和物の組み合わせによって形成される。

【００１１】

特定の実施形態において、組成物は、約１：１０～約１：２（すなわち、約１：１０、約１：９、約１：８、約１：７、約１：６、約１：５、約１：４、約１：３、及び約１：２）のクエン酸：クエン酸三ナトリウム二水和物の質量比で、クエン酸及びクエン酸三ナトリウム二水和物を含む。特定の実施形態において、組成物は、約１：９のクエン酸：クエン酸三ナトリウム二水和物の質量比で、クエン酸及びクエン酸三ナトリウム二水和物を含む。特定の実施形態において、組成物は、約１：２のクエン酸：クエン酸三ナトリウム二水和物の質量比で、クエン酸及びクエン酸三ナトリウム二水和物を含む。

【００１２】

特定の実施形態において、組成物は、約０．２０ｍｇ～約０．２４ｍｇのポリソルベート２０を含む。特定の実施形態において、組成物は、約０．２２ｍｇのポリソルベート２０を含む。

【００１３】

特定の実施形態において、組成物は、約２．２ｍｇのポリペプチドを含む。特定の実施形態において、組成物は、約１１ｍｇのポリペプチドを含む。特定の実施形態において、組成物は、約３３ｍｇのポリペプチドを含む。

【００１４】

特定の実施形態において、組成物は凍結乾燥ケーキである。特定の実施形態において、凍結乾燥ケーキを水に溶解すると、約５．５～約６．５のｐＨを有する水溶液が得られる。特定の実施形態において、凍結乾燥ケーキを水に溶解すると、約６．１のｐＨを有する水溶液が得られる。

【００１５】

特定の実施形態において、凍結乾燥ケーキを水に溶解すると、約１６０～約２３０ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を有する水溶液が得られる。特定の実施形態において、凍結乾燥ケーキを水に溶解すると、約１７９ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を有する水溶液が得られる。

【００１６】

特定の実施形態において、凍結乾燥ケーキを塩化ナトリウム溶液に溶解すると、約２４０～約３４０ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を有する水溶液が得られる。

【００１７】

特定の実施形態において、水溶液は、水または塩化ナトリウム溶液で更に希釈される。

【００１８】

特定の実施形態において、水溶液は、約０．０３ｍｇ／ｍＬのポリペプチド～約０．２ｍｇ／ｍＬのポリペプチドを含む。

【００１９】

特定の実施形態において、組成物は水溶液である。

【００２０】

特定の実施形態において、組成物は、２．２ｍｇのポリペプチドを含む２．２ｍｌの水溶液である。特定の実施形態において、組成物は、１１ｍｇのポリペプチドを含む２．２ｍｌの水溶液である。特定の実施形態において、組成物は、３３ｍｇのポリペプチドを含む２．２ｍｌの水溶液である。特定の実施形態において、組成物は、４４ｍｇのポリペプチドを含む２．２ｍｌの水溶液である。

【００２１】

特定の実施形態において、溶液のｐＨは約６．１である。

【００２２】

特定の実施形態において、組成物は、ポリペプチドの単一単位用量である。

【００２３】

一態様において、本開示は、
ａ）ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２を含む約１ｍｇ～約５０ｍｇ（例えば、約２、１１、または３３ｍｇ）のポリペプチド、
ｂ）約１００ｍｇ～約１２０ｍｇのスクロース、
ｃ）約４．０ｍｇ～約６．０ｍｇのクエン酸アニオン、及び
ｄ）約０．２０ｍｇ～約０．２４ｍｇのポリソルベート２０を含む、組成物を提供する。

【００２４】
特定の実施形態において、ポリペプチドは、配列番号１と少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を含む。

【００２５】
特定の実施形態において、組成物は、約１１０ｍｇのスクロースを含む。特定の実施形態において、組成物は、約５．０ｍｇのクエン酸アニオンを含む。特定の実施形態において、組成物は、約０．２２ｍｇのポリソルベート２０を含む。

【００２６】
特定の実施形態において、組成物は、約２．２ｍｇのポリペプチドを含む。特定の実施形態において、組成物は、約１１ｍｇのポリペプチドを含む。特定の実施形態において、組成物は、約３３ｍｇのポリペプチドを含む。特定の実施形態において、組成物は、約４４ｍｇのポリペプチドを含む。

【００２７】
特定の実施形態において、組成物は凍結乾燥ケーキである。特定の実施形態において、凍結乾燥ケーキは、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約２．２ｍｇのポリペプチド、
ｂ）約１１０ｍｇのスクロース、
ｃ）約５．０ｍｇのクエン酸アニオン、及び
ｄ）約０．２２ｍｇのポリソルベート２０、を含む。
特定の実施形態において、凍結乾燥ケーキは、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約１１ｍｇのポリペプチド、
ｂ）約１１０ｍｇのスクロース、
ｃ）約５．０ｍｇのクエン酸アニオン、及び
ｄ）約０．２２ｍｇのポリソルベート２０、を含む。
特定の実施形態において、凍結乾燥ケーキは、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約３３ｍｇのポリペプチド、
ｂ）約１１０ｍｇのスクロース、
ｃ）約５．０ｍｇのクエン酸アニオン、及び
ｄ）約０．２２ｍｇのポリソルベート２０、を含む。

【００２８】
特定の実施形態において、組成物は水溶液である。特定の実施形態において、組成物は、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約２．２ｍｇのポリペプチド、
ｂ）約１１０ｍｇのスクロース、
ｃ）約５．０ｍｇのクエン酸アニオン、及び
ｄ）約０．２２ｍｇのポリソルベート２０、を含む、２．２ｍｌの水溶液である。
特定の実施形態において、組成物は、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約１１ｍｇのポリペプチド、
ｂ）約１１０ｍｇのスクロース、
ｃ）約５．０ｍｇのクエン酸アニオン、及び
ｄ）約０．２２ｍｇのポリソルベート２０を含む、２．２ｍｌの水溶液である。
特定の実施形態において、組成物は、

ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約３３ｍｇのポリペプチド、
ｂ）約１１０ｍｇのスクロース、
ｃ）約５．０ｍｇのクエン酸アニオン、及び
ｄ）約０．２２ｍｇのポリソルベート２０、を含む、２．２ｍｌの水溶液である。
特定の実施形態において、水溶液のｐＨは約６．１である。
【００２９】
特定の実施形態において、組成物は、ポリペプチドの単一単位用量である。
【００３０】
別の態様において、本開示は、
ａ）ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２を含む約１ｍｇ／ｍＬ～約２０ｍｇ／ｍＬのポリペプチド、
ｂ）約４５ｍｇ／ｍＬ～約５５ｍｇ／ｍＬのスクロース、
ｃ）約１０ｍＭ～約２０ｍＭ（例えば、約１０ｍＭ～約１３ｍＭ）のクエン酸塩、及び
ｄ）約０．０９ｍｇ／ｍＬ～約１．１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０、を含み、
溶液のｐＨが約５．５～約６．５である、水性組成物を提供する。
【００３１】
特定の実施形態において、ポリペプチドは、配列番号１と少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を含む。
【００３２】
特定の実施形態において、水性組成物は、約５０ｍｇ／ｍＬのスクロースを含む。特定の実施形態において、水性組成物は、約１２ｍＭのクエン酸塩を含む。
【００３３】
特定の実施形態において、水性組成物は、約０．１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０を含む。特定の実施形態において、水性組成物は、約６．１のｐＨを有する。
【００３４】
特定の実施形態において、組成物は、約１ｍｇ／ｍＬのポリペプチドを含む。特定の実施形態において、組成物は、約５ｍｇ／ｍＬのポリペプチドを含む。特定の実施形態において、組成物は、約１５ｍｇ／ｍＬのポリペプチドを含む。特定の実施形態において、組成物は、約２０ｍｇ／ｍＬのポリペプチドを含む。
【００３５】
別の態様において、本開示は、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約１ｍｇ／ｍＬ、５ｍｇ／ｍＬ、または１５ｍｇ／ｍＬのポリペプチド、
ｂ）約５０ｍｇ／ｍＬ～約５５ｍｇ／ｍＬのスクロース、
ｃ）約１２ｍＭのクエン酸緩衝液、及び
ｄ）約０．１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０、を含み、
組成物のｐＨが約６．１である、水性組成物を提供する。
【００３６】
特定の実施形態において、水性組成物は、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約１ｍｇ／ｍＬのポリペプチド、
ｂ）約５０ｍｇ／ｍＬのスクロース、
ｃ）約１２ｍＭ（例えば、約１１．９５ｍＭ）のクエン酸塩、及び
ｄ）約０．１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０、を含み、
溶液のｐＨは、約６．１である。
特定の実施形態において、水性組成物は、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約５ｍｇ／ｍＬのポリペプチド、
ｂ）約５０ｍｇ／ｍＬのスクロース、
ｃ）約１２ｍＭ（例えば、約１１．９５ｍＭ）のクエン酸塩、及び

ｄ）約０．１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０、を含み、
溶液のｐＨは、約６．１である。
特定の実施形態において、水性組成物は、
ａ）配列番号１のアミノ酸配列を含む約１５ｍｇ／ｍＬのポリペプチド、
ｂ）約５０ｍｇ／ｍＬのスクロース、
ｃ）約１２ｍＭ（例えば、約１１．９５ｍＭ）のクエン酸塩、及び
ｄ）約０．１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０、を含み、
溶液のｐＨは、約６．１である。

【００３７】

別の態様において、本開示は、前述の組成物のうちのいずれかを含む製品を提供する。特定の実施形態において、物品はガラスバイアルである。

【００３８】

別の態様において、本開示は、前述の水溶液のいずれかを凍結乾燥することによって作製される凍結乾燥組成物を提供する。

【００３９】

別の態様において、本開示は、凍結乾燥組成物を作製する方法を提供し、本方法は、前述の水溶液のいずれかを凍結乾燥することを含む。

【００４０】

別の態様において、本開示は、水性組成物を作製する方法であって、前述の凍結乾燥組成物のいずれかを水性溶媒中に溶解することを含む方法を提供する。

【００４１】

特定の実施形態において、水性溶媒は、注射用水である。特定の実施形態において、水性溶媒は、塩化ナトリウム溶液である。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液は、約０．１％のＮａＣｌ～約０．５％のＮａＣｌを含む。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液は、約０．１２％のＮａＣｌ～約０．４１％のＮａＣｌを含む。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液は、約０．０２ＭのＮａＣｌ～約０．０７ＭのＮａＣｌを含む。特定の実施形態において、水性組成物は、約２４０～約３４０ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を備える。

【００４２】

特定の実施形態において、水性組成物のｐＨは、約６．１に調整される。特定の実施形態において、水性組成物のｐＨは、塩基で約６．１に調整される。特定の実施形態において、塩基は水酸化ナトリウムである。

【００４３】

特定の実施形態において、水性組成物は、約１％（ｗ／ｗ）の界面活性剤を含む水溶液で更に希釈される。特定の実施形態において、界面活性剤は、ポリソルベート２０である。特定の実施形態において、水溶液は、約０．１％（ｗ／ｗ）のクエン酸一水和物、０．２％（ｗ／ｗ）のクエン酸三ナトリウム二水和物、及び９８．７％（ｗ／ｗ）の注射用水を更に含む。

【００４４】

特定の実施形態において、組成物は、薬学的組成物を含む。

【００４５】

別の態様において、本開示は、対象においてナチュラルキラー細胞（ＮＫ）細胞を活性化する方法であって、有効量の前述の組成物のいずれかを対象に投与することを含む方法を提供する。

【００４６】

別の態様において、本開示は、がんの治療を必要とする対象においてがんを治療する方法を提供し、本方法は、有効量の前述の組成物のうちのいずれかを対象に投与することを含む。特定の実施形態において、がんは、腎細胞癌、黒色腫、卵巣癌、または肺癌である。特定の実施形態において、がんは、難治性固形腫瘍を含む。

【００４７】

本発明の前述の特徴及び他の特徴ならびに利点は、添付の図面と併せ読まれる例示的な実施形態の以下の詳細な説明からより完全に理解されるであろう。特許または出願ファイルは、カラーで実行される少なくとも１つの図面を含む。カラー図面（複数可）を含む本特許または特許出願公開のコピーは、要求された、必要な料金を支払うことにより、特許庁によって提供される。

【図面の簡単な説明】

【００４８】

【図１】再構成生成物または凍結乾燥生成物としての、いくつかの製剤中のポリペプチドＡの活性を示す。活性は、ｐＳＴＡＴ５　ＥＬＩＳＡアッセイで測定した。

【図２】凍結乾燥生成物としての、いくつかの製剤中のポリペプチドＡのサイズ排除クロマトグラフィーの結果を示す。

【図３】再構成生成物としての、いくつかの製剤中のポリペプチドＡのサイズ排除クロマトグラフィーの結果を示す。

【図４】緩衝液組成物の関数としてのポリペプチドＡの示差走査熱量測定研究を示す。アンフォールディング結果のＴｍを示す。全ての誤差バーは、３連の実験の標準偏差である。

【図５】緩衝液組成物の関数として、７２℃でのポリペプチドＡの時間研究を伴うＯＤ３５０を示す。７２℃で８時間後の平均ＯＤ３５０を示す。全ての誤差バーは、３連の実験の標準偏差である。

【図６】３００ＲＰＭでの３日間の振盪後の緩衝液組成物の関数としてのポリペプチドＡのマイクロフローイメージング研究を示す。総可視粒子濃度を示し、誤差バーは３連の実験からの標準偏差である。

【図７】振盪ストレス及び緩衝液組成物の関数としてのポリペプチドＡのマイクロフローイメージング研究を示す。総サブ可視粒子濃度を示し、誤差バーは３連の実験からの標準偏差である。

【発明を実施するための形態】

【００４９】

本明細書において、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２を含むポリペプチドを含む組成物、ならびにそのような組成物の作製及び使用方法が提供される。

【００５０】

本明細書に開示される製剤は、その中に含まれるポリペプチドの向上した安定性及び貯蔵寿命を提供する。特に、ポリペプチド生成物は、列挙された製剤中で凍結乾燥され、注射用水（ＷＦＩ）または同様に許容される希釈剤中で再構成された後を含めて、生物学的活性を保持する。重要なことに、本明細書に記載の製剤は、凍結乾燥された生成物が、患者または医療提供者に容易に入手可能であるＷＦＩで再構成されることを可能にするように設計されている。

【００５１】

本明細書で提供する製剤はまた、好ましい外観を有する凍結乾燥ケーキをもたらす。具体的には、ケーキは無傷（断片化されていない）であり、容器（例えば、ガラスバイアル）からの収縮がほとんどまたはまったくなく、均一な凹面を有する。

【００５２】

選択された定義

本明細書で別段定義されない限り、本明細書で使用される科学用語及び技術用語は、当業者によって一般に理解される意味を有する。潜在的な曖昧さの場合、本明細書で提供される定義は、辞書または外在的な定義よりも優先される。文脈によって別段要求されない限り、単数形の用語は複数形を含み、複数形の用語は単数形を含むものとする。「または」の使用は、別段明記されない限り、「及び／または」を意味する。「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」という用語、ならびに「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」及び「含まれる」などの他の形態の使用は、限定されない。

【００５３】

本明細書で使用される場合、用語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「有する」、及びそれらの文法的変形形態は、記載された特徴、整数、ステップまたは構成要素を特定するものとして理解されるべきであるが、１つ以上の更なる特徴、整数、ステップ、構成要素またはそれらの群の追加を排除しない。これらの用語は、用語「～からなる」及び「～から本質的になる」を包含する。

【００５４】

本明細書で使用される場合、用語「循環置換」及び「循環置換された」は、直鎖状タンパク質またはその同族核酸配列を取り出し、天然のＮ末端及びＣ末端を（タンパク質または組換えＤＮＡ方法論を使用して、直接またはリンカーを通して）融合して環状分子を形成し、次いで、異なる位置で環状分子を切断（開口）して、元の分子内の末端とは異なる末端を有する新しい直鎖状タンパク質または同族核酸分子を形成するプロセスを指す。したがって、循環置換は、タンパク質の配列、構造、及び機能を保持しながら、元の分子と比較して所望のポリペプチド融合パートナーを融合するための向きの改善をもたらす異なる位置で新しいＣ末端及びＮ末端を生成する。

【００５５】

本明細書で使用される場合、用語「約」は、当業者によって理解され、それが使用される文脈によってある程度変化する。本明細書で使用される場合、量、持続時間等の測定可能な値に言及する場合、「約」という用語は、そのような変動が開示される方法を実行するのに適切であるため、指定された値から±５％、±１％、及び±０．１％を含む、最大±５％の変動を包含することを意味する。

【００５６】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療される」、「治療すること」、または「治療」という用語は、治療される状態、障害または疾患によって関連付けられまたは引き起こされる少なくとも１つの症状の減少または緩和を含む。

【００５７】

本明細書で使用される場合、対象への療法の投与の文脈における「有効量」という用語は、所望の予防または治療効果を達成する療法の量を指す。

【００５８】

本明細書で使用される場合、「患者」、「個体」または「対象」という用語は、ヒトまたは非ヒト哺乳動物を指す。非ヒト哺乳動物としては、例えば、家畜及びペット、例えば、ヒツジ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ及びマウス哺乳動物が挙げられる。特定の実施形態において、対象はヒトである。

【００５９】

ＩＬ－２融合ポリペプチド

一態様において、本開示は、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換インターロイキン－２（ＩＬ－２）を含むポリペプチドの組成物を提供する。本明細書に開示される組成物に用いられるポリペプチドは、高親和性ＩＬ－２Ｒ複合体（ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－２Ｒβ、及びＩＬ－２Ｒγを含む）と比較して、中間親和性ＩＬ－２Ｒ複合体ＩＬ－２Ｒβ及び共通のガンマ鎖を含む、ＩＬ－２Ｒγ）への優先的な結合を示し、中間親和性ＩＬ－２Ｒ複合体の選択的アゴニストとして振る舞う。そのようなポリペプチドの設計及び生成は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第９，３５９，４１５号に記載される。

【００６０】

本明細書に開示される組成物に含めるのに有用な例示的なポリペプチドは、以下の配列番号１に記載される。

ＳＫＮＦＨＬＲＰＲＤＬＩＳＮＩＮＶＩＶＬＥＬＫＧＳＥＴＴＦＭＣＥＹＡＤＥＴＡＴＩ
ＶＥＦＬＮＲＷＩＴＦＳＱＳＩＩＳＴＬＴＧＧＳＳＳＴＫＫＴＱＬＱＬＥＨＬＬＬＤＬＱ
ＭＩＬＮＧＩＮＮＹＫＮＰＫＬＴＲＭＬＴＦＫＦＹＭＰＫＫＡＴＥＬＫＨＬＱＣＬＥＥＥ
ＬＫＰＬＥＥＶＬＮＬＡＱＧＳＧＧＧＳＥＬＣＤＤＤＰＰＥＩＰＨＡＴＦＫＡＭＡＹＫＥ
ＧＴＭＬＮＣＥＣＫＲＧＦＲＲＩＫＳＧＳＬＹＭＬＣＴＧＮＳＳＨＳＳＷＤＮＱＣＱＣＴ

ＳＳＡＴＲＮＴＴＫＱＶＴＰＱＰＥＥＱＫＥＲＫＴＴＥＭＱＳＰＭＱＰＶＤＱＡＳＬＰＧＨＣＲＥＰＰＰＷＥＮＥＡＴＥＲＩＹＨＦＶＶＧＱＭＶＹＹＱＣＶＱＧＹＲＡＬＨＲＧＰＡＥＳＶＣＫＭＴＨＧＫＴＲＷＴＱＰＱＬＩＣＴＧ（配列番号１）

【００６１】

したがって、特定の実施形態において、ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号１のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号１のアミノ酸配列からなる。

【００６２】

当業者は、配列番号１のアミノ酸配列変異体は、本明細書に開示される組成物にも用いることができることを理解するであろう。例えば、特定の実施形態において、ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、または９９％）の同一性を有するアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。特定の実施形態において、ポリペプチドのアミノ酸配列は、配列番号１のアミノ酸配列と少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる。

【００６３】

当業者はまた、本明細書に開示される組成物に用いられるポリペプチドのアミノ酸配列は、誘導体化または修飾、例えば、ペグ化、アミド化などされ得ることも理解するであろう。

【００６４】

特定の実施形態において、製剤中のポリペプチドの量は、約１ｍｇ～約５０ｍｇ（例えば、約１ｍｇ、約２ｍｇ、約３ｍｇ、約４ｍｇ、約５ｍｇ、約６ｍｇ、約７ｍｇ、約８ｍｇ、約９ｍｇ、約１０ｍｇ、約１１ｍｇ、約１２ｍｇ、約１３ｍｇ、約１４ｍｇ、約１５ｍｇ、約１６ｍｇ、約１７ｍｇ、約１８ｍｇ、約１９ｍｇ、約２０ｍｇ、約２５ｍｇ、約３０ｍｇ、約３３ｍｇ、約４０ｍｇ、約４４ｍｇ、約４５ｍｇ、または約５０ｍｇ）である。特定の実施形態において、ポリペプチドの量は約２．２ｍｇである。特定の実施形態において、ポリペプチドの量は約１１ｍｇである。特定の実施形態において、ポリペプチドの量は約３３ｍｇである。特定の実施形態において、ポリペプチドの量は約４４ｍｇである。

【００６５】

特定の実施形態において、水性製剤中のポリペプチドの濃度は、約１ｍｇ／ｍＬ～約５０ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリペプチドの濃度は、約１ｍｇ／ｍＬ～約２０ｍｇ／ｍＬ（例えば、約１ｍｇ／ｍＬ、約２ｍｇ／ｍＬ、約３ｍｇ／ｍＬ、約４ｍｇ／ｍＬ、約５ｍｇ／ｍＬ、約６ｍｇ／ｍＬ、約７ｍｇ／ｍＬ、約８ｍｇ／ｍＬ、約９ｍｇ／ｍＬ、約１０ｍｇ／ｍＬ、約１１ｍｇ／ｍＬ、約１２ｍｇ／ｍＬ、約１３ｍｇ／ｍＬ、約１４ｍｇ／ｍＬ、約１５ｍｇ／ｍＬ、約１６ｍｇ／ｍＬ、約１７ｍｇ／ｍＬ、約１８ｍｇ／ｍＬ、約１９ｍｇ／ｍＬ、約２０ｍｇ／ｍＬ、約２５ｍｇ／ｍＬ、約３０ｍｇ／ｍＬ、約３５ｍｇ／ｍＬ、約４０ｍｇ／ｍＬ、約４５ｍｇ／ｍＬ、または約５０ｍｇ／ｍＬ）である。特定の実施形態において、ポリペプチドの濃度は、約１ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリペプチドの濃度は、約５ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリペプチドの濃度は、約１５ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリペプチドの濃度は、約２０ｍｇ／ｍＬである。

【００６６】

特定の実施形態において、水性製剤は水または塩化ナトリウム溶液で更に希釈され、それにより製剤中のポリペプチドの濃度を低減させる。特定の実施形態において、水溶液は、約０．０３ｍｇ／ｍＬのポリペプチド～約０．２ｍｇ／ｍＬのポリペプチド（例えば、約０．０３ｍｇ／ｍＬ、約０．０４ｍｇ／ｍＬ、約０．０５ｍｇ／ｍＬ、約０．０６ｍｇ／ｍＬ、約０．０７ｍｇ／ｍＬ、または約０．０８ｍｇ／ｍＬ、約０．０９ｍｇ／ｍＬ、約０．１０ｍｇ／ｍＬ、約０．１１ｍｇ／ｍＬ、約０．１２ｍｇ／ｍＬ、約０．１３ｍｇ

／ｍＬ、約０．１４ｍｇ／ｍＬ、約０．１５ｍｇ／ｍＬ、約０．１６ｍｇ／ｍＬ、約０．１７ｍｇ／ｍＬ、約０．１８ｍｇ／ｍＬ、約０．１９ｍｇ／ｍＬ、または約０．２ｍｇ／ｍＬ）を含む。

【００６７】

特定の実施形態において、水性製剤は、約１％（ｗ／ｗ）の界面活性剤を含む水溶液で更に希釈される。特定の実施形態において、界面活性剤は、ポリソルベート２０である。特定の実施形態において、水溶液は、約０．１％（ｗ／ｗ）のクエン酸一水和物、０．２％（ｗ／ｗ）のクエン酸三ナトリウム二水和物、及び９８．７％（ｗ／ｗ）の注射用水を更に含む。

【００６８】

賦形剤及び緩衝液

特定の実施形態において、本明細書に開示される組成物は、１つ以上の賦形剤及び／または緩衝液を含む。

【００６９】

本明細書で使用される場合、「賦形剤」という用語は、所望の稠度、粘度、または安定化効果を提供するために組成物または製剤に添加される任意選択の非治療剤を指す。本明細書に開示される組成物で使用される好適な賦形剤は、例えば、粘度向上剤、安定剤、可溶化剤等として作用することができる。賦形剤は、イオン性であっても非イオン性であってもよい。好適なイオン性賦形剤としては、ＮａＣｌ等の塩、またはアルギニン－ＨＣｌ等のアミノ酸成分が挙げられる。好適な非イオン性賦形剤としては、糖類、例えば、単糖類（例えば、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、Ｄ－マンノース、ソルボース等）、二糖類（例えば、ラクトース、スクロース、トレハロース、セロビオース等）、多糖類（例えば、ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン等）、及び糖アルコール（例えば、マンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール（グルシトール）等）が挙げられる。例えば、糖は、スクロース、トレハロース、ラフィノース、マルトース、ソルビトール、またはマンニトールであってもよい。加えてまたは代替的に、糖は、糖アルコールまたはアミノ糖であり得る。特定の実施形態において、糖は、スクロースである。

【００７０】

特定の実施形態において、製剤中の賦形剤（例えば、スクロース）の量は、約１ｍｇ～約１５０ｍｇ（例えば、約１ｍｇ、約１０ｍｇ、約２０ｍｇ、約３０ｍｇ、約４０ｍｇ、約５０ｍｇ、約６０ｍｇ、約７０ｍｇ、約８０ｍｇ、約９０ｍｇ、約１００ｍｇ、約１１０ｍｇ、約１２０ｍｇ、約１３０ｍｇ、約１４０ｍｇ、または約１５０ｍｇ）である。特定の実施形態において、製剤中の賦形剤（例えば、スクロース）の量は、約９０ｍｇ～約１３０ｍｇである。特定の実施形態において、製剤中の賦形剤（例えば、スクロース）の量は、約９９ｍｇ～約１２１ｍｇである。特定の実施形態において、製剤中の賦形剤（例えば、スクロース）の量は、約１１０ｍｇである。

【００７１】

特定の実施形態において、水性製剤中の賦形剤（例えば、スクロース）の濃度は、約１ｍｇ／ｍＬ～約１００ｍｇ／ｍＬ（例えば、約１ｍｇ／ｍＬ、約１０ｍｇ／ｍＬ、約２０ｍｇ／ｍＬ、約３０ｍｇ／ｍＬ、約４０ｍｇ／ｍＬ、約４５ｍｇ／ｍＬ、約５０ｍｇ／ｍＬ、約５５ｍｇ／ｍＬ、約６０ｍｇ／ｍＬ、約７０ｍｇ／ｍＬ、約８０ｍｇ／ｍＬ、約９０ｍｇ／ｍＬ、または約１００ｍｇ／ｍＬ）である。特定の実施形態において、賦形剤（例えば、スクロース）の濃度は、約３０ｍｇ／ｍＬ～約７０ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、賦形剤（例えば、スクロース）の濃度は、約４５ｍｇ／ｍＬ～約５５ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、賦形剤（例えば、スクロース）の濃度は、約５０ｍｇ／ｍＬである。

【００７２】

本明細書に開示される組成物で使用される好適な緩衝剤としては、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸、もしくはフタル酸の塩、トリス、

塩酸トロメタミン、またはリン酸緩衝液などの有機酸及び塩が挙げられる。加えて、アミノ酸成分も緩衝剤として使用することができる。かかるアミノ酸成分には、グリシン、ヒスチジン、及びメチオニンが含まれる。特定の実施形態において、緩衝液は、クエン酸緩衝液である。本明細書で使用される場合、「クエン酸緩衝液」という用語は、クエン酸イオンを利用する（水性または凍結乾燥形態の）ｐＨ緩衝系を指す。クエン酸緩衝液は、（ｉ）クエン酸、クエン酸三ナトリウム二水和物、及びクエン酸一水和物、または（ｉｉ）クエン酸一水和物、リン酸二ナトリウム、及びクエン酸を組み合わせることを含む、任意の当技術分野で認識される方法を使用して作製することができる。特定の実施形態において、クエン酸緩衝液は、クエン酸ナトリウム二水和物及びクエン酸を使用して作製される。

【００７３】

特定の実施形態において、製剤中の緩衝剤（例えば、クエン酸塩）の量は、約１ｍｇ～約１０ｍｇ（例えば、約１ｍｇ、約２ｍｇ、約３ｍｇ、約４ｍｇ、約５ｍｇ、約６ｍｇ、約７ｍｇ、約８ｍｇ、約９ｍｇ、約１０ｍｇ）である。特定の実施形態において、緩衝剤（例えば、クエン酸塩）の量は、約５．９ｍｇ～約７．２ｍｇ（例えば、約５．９ｍｇ、約６．０ｍｇ、約６．１ｍｇ、約６．２ｍｇ、約６．３ｍｇ、約６．４ｍｇ、約６．５ｍｇ、約６．６ｍｇ、約６．７ｍｇ、約６．８ｍｇ、約６．９ｍｇ、約７．０ｍｇ、約７．１ｍｇ、または約７．２ｍｇ）である。特定の実施形態において、緩衝剤（例えば、クエン酸塩）の量は、約６．６ｍｇである。特定の実施形態において、緩衝剤（例えば、クエン酸塩）中のクエン酸アニオンの量は、約４．０ｍｇ～約６．０ｍｇである。特定の実施形態において、緩衝剤（例えば、クエン酸塩）中のクエン酸アニオンの量は、約５．０ｍｇである。

【００７４】

特定の実施形態において、本明細書に開示される水性製剤中の緩衝剤（例えば、クエン酸塩）の濃度は、約１ｍＭ～約５０ｍＭ（例えば、約１ｍＭ、約２ｍＭ、約３ｍＭ、約４ｍＭ、約５ｍＭ、約６ｍＭ、約７ｍＭ、約８ｍＭ、約９ｍＭ、約１０ｍＭ、約１１ｍＭ、約１２ｍＭ、約１３ｍＭ、約１４ｍＭ、約１５ｍＭ、約１６ｍＭ、約１７ｍＭ、約１８ｍＭ、約１９ｍＭ、約２０ｍＭ、約２５ｍＭ、約３０ｍＭ、約３５ｍＭ、約４０ｍＭ、約４５ｍＭ、または約５０ｍＭ）である。特定の実施形態において、緩衝剤（例えば、クエン酸塩）の濃度は、約１１ｍＭ～約１３ｍＭ（例えば、約１１．１ｍＭ、１１．２ｍＭ、１１．３ｍＭ、１１．４ｍＭ、１１．５ｍＭ、１１．６ｍＭ、１１．７ｍＭ、１１．８ｍＭ、１１．９ｍＭ、１２．１ｍＭ、１２．２ｍＭ、１２．３ｍＭ、１２．４ｍＭ、１２．５ｍＭ、１２．６ｍＭ、１２．７ｍＭ、１２．８ｍＭ、または１２．９ｍＭ）である。特定の実施形態において、緩衝剤（例えば、クエン酸塩）の濃度は、約１２ｍＭである。特定の実施形態において、緩衝剤（例えば、クエン酸塩）の濃度は、約１１．９５ｍＭである。特定の実施形態において、クエン酸緩衝液は、２．０３ｍｇ／ｍＬ（６．９０ｍＭ）のクエン酸三ナトリウム二水和物及び０．９７ｍｇ／ｍＬ（５．０５ｍＭ）のクエン酸を含有する。

【００７５】

特定の実施形態において、本明細書に開示される組成物は、約５．０～約８．０、約５．５～約７．５、約５．０～約７．０、約６．０～約８．０、または約６．０～約７．０のｐＨを有する。特定の実施形態において、組成物は、約５．５～約６．５のｐＨを有する。特定の実施形態において、組成物は、約５．８～約６．４のｐＨを有する。特定の実施形態において、組成物は、約６．１のｐＨを有する。特定の実施形態において、組成物のｐＨは、約６．１のｐＨに調整される。特定の実施形態において、ｐＨは、塩基により調整される。特定の実施形態において、塩基は、水酸化ナトリウム（ＮａＯＨ）または水酸化カリウム（ＫＯＨ）などの水酸化物塩である。特定の実施形態において、組成物は、水性組成物であり、水性組成物のｐＨは、約６．１のｐＨに調整される。

【００７６】

本明細書で使用される場合、用語「界面活性剤」は、両親媒性構造を有する有機物質を

指し、すなわち、それらは、反対の溶解傾向の基、典型的には油溶性炭化水素鎖及び水溶性イオン基からなる。界面活性剤は、表面活性部分の電荷に応じて、種々の薬学的組成物及び生物材料の調製物に対して、陰イオン性、陽イオン性及び分散剤に分類することができる。本明細書に開示される組成物中で使用される好適な界面活性剤としては、非イオン性界面活性剤、イオン性界面活性剤、及び双性イオン性界面活性剤が挙げられる。本発明とともに使用するための典型的な界面活性剤としては、ソルビタン脂肪酸エステル（例えば、ソルビタンモノカプリレート、ソルビタンモノラウレート、ソルビタンモノパルミテート）、ソルビタントリオレエート、グリセリン脂肪酸エステル（例えば、グリセリンモノカプリレート、グリセリンモノミリステート、グリセリンモノステアレート）、ポリグリセリン脂肪酸エステル（例えば、デカグリセリルモノステアレート、デカグリセリルジステアレート、デカグリセリルモノリノレエート）、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノパルミテート、ポリオキシエチレンソルビタントリオレート、ポリオキシエチレンソルビタントリステアレート）、ポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステル（例えば、ポリオキシエチレンソルビトールテトラステアレート、ポリオキシエチレンソルビトールテトラオレート）、ポリオキシエチレングリセリン脂肪酸エステル（例えば、ポリオキシエチレングリセリルモノステアレート）、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル（例えば、ポリエチレングリコールジステアレート）、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（例えば、ポリオキシエチレンラウリルエーテル）、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル（例えば、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンプロピルエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンセチルエーテル）、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル（例えば、ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル）、ポリオキシエチレン水素化ヒマシ油（例えば、ポリオキシエチレンヒマシ油、ポリオキシエチレン水素化ヒマシ油）、ポリオキシエチレン蜜蝋誘導体（例えば、ポリオキシエチレンソルビトール蜜蝋）、ポリオキシエチレンラノリン誘導体（例えば、ポリオキシエチレンラノリン）、及びポリオキシエチレン脂肪酸アミド（例えば、ポリオキシエチレンステアリン酸アミド、Ｃ１０～Ｃ１８アルキル硫酸塩（例えば、セチル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、オレイル硫酸ナトリウム）、平均２～４モルのエチレンオキシド単位を添加したポリオキシエチレンＣ１０～Ｃ１８アルキルエーテル硫酸塩（例えばポリオキシエチレンラウリル硫酸ナトリウム）、及びＣ１～Ｃ１８アルキルスルホスクシネートエステル塩（例えばラウリルスルホスクシネートエステルナトリウム）、ならびにレシチン、グリセロリン脂質、スフィンゴリン脂質（例えばスフィンゴミエリン）、及びＣ１２～Ｃ１８脂肪酸のスクロースエステル等の天然界面活性剤、が含まれる。組成物は、これらの界面活性剤のうちの１つ以上を含んでよい。特定の実施形態において、本明細書に開示される組成物は、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、例えば、ポリソルベート２０、４０、６０、または８０を含む。特定の実施形態において、本明細書に開示される組成物は、ポリソルベート２０を含む。

【００７７】

特定の実施形態において、製剤中の界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０）の濃度は、約０．１ｍｇ～約１ｍｇ（例えば、約０．１ｍｇ、約０．１５ｍｇ、約０．２ｍｇ、約０．２５ｍｇ、約０．３ｍｇ、約０．３５ｍｇ、約０．４ｍｇ、約０．４５ｍｇ、約０．５ｍｇ、約０．５５ｍｇ、約０．６ｍｇ、約０．６５ｍｇ、約０．７ｍｇ、約０．７５ｍｇ、約０．８ｍｇ、約０．８５ｍｇ、約０．９ｍｇ、約０．９５ｍｇ、または約１ｍｇ）である。特定の実施形態において、界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０）の濃度は、約０．１５ｍｇ～約０．３ｍｇ（例えば、約０．１６ｍｇ、約０．１７ｍｇ、約０．１８ｍｇ、約０．１９ｍｇ、約０．２１ｍｇ、約０．２２ｍｇ、約０．２３ｍｇ、約０．２４ｍｇ、約０．２６ｍｇ、約０．２７ｍｇ、約０．２８ｍｇ、または約０．２９ｍｇ）である。特定の実施形態において、界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０）の濃度は

、約０．２０ｍｇ～約０．２４ｍｇである。特定の実施形態において、水性製剤中の界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０）の濃度は、約０．２２ｍｇである。

【００７８】

特定の実施形態において、水性製剤中の界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０）の濃度は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ～約１ｍｇ／ｍＬ（例えば、約０．０１ｍｇ／ｍＬ、約０．１ｍｇ／ｍＬ、約０．２ｍｇ／ｍＬ、約０．３ｍｇ／ｍＬ、約０．４ｍｇ／ｍＬ、約０．５ｍｇ／ｍＬ、約０．６ｍｇ／ｍＬ、約０．７ｍｇ／ｍＬ、約０．８ｍｇ／ｍＬ、約０．９ｍｇ／ｍＬ、または約１ｍｇ／ｍＬ）である。特定の実施形態において、界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０）の濃度は、約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約０．１５ｍｇ／ｍＬ（例えば、約０．０５ｍｇ／ｍＬ、約０．０６ｍｇ／ｍＬ、約０．０７ｍｇ／ｍＬ、または約０．０８ｍｇ／ｍＬ、約０．０９ｍｇ／ｍＬ、約０．１ｍｇ／ｍＬ、約０．１１ｍｇ／ｍＬ、約０．１２ｍｇ／ｍＬ、約０．１３ｍｇ／ｍＬ、約０．１４ｍｇ／ｍＬ、または約０．１５ｍｇ／ｍＬ）である。特定の実施形態において、界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０）の濃度は、約０．０９ｍｇ／ｍＬ～約０．１１ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、水性製剤中の界面活性剤（例えば、ポリソルベート２０）の濃度は、約０．１ｍｇ／ｍＬである。

【００７９】

本発明の組成物の成分及び組成物は、ｍｇ／ｍＬ以外の単位で記載してもよいことが当業者には理解されるであろう。例えば、本発明の組成物の成分及び組成物は、モル濃度の単位で記載し得る。本発明の組成物の成分及び組成物は、重量パーセントまたは質量パーセントの単位で更に記載することができる。

【００８０】

凍結乾燥

一態様において、本開示は、本明細書に開示するポリペプチドの凍結乾燥組成物（例えば、凍結乾燥ケーキ）、及びそれらの作製方法を提供する。

【００８１】

凍結乾燥は、一般に、凍結、一次乾燥、及び二次乾燥の３つの主要な段階を含む。凍結は、水を氷にまたはいくつかの非晶質配合物成分を結晶形に変換するために必要である。一次乾燥は、低圧及び低温で直接昇華することにより、凍結生成物から氷を除去するプロセスステップである。二次乾燥は、残留水の蒸発表面への拡散を利用して生成物マトリックスから結合水を除去するプロセスステップである。二次乾燥時の製品温度は通常、一次乾燥時より高い。Ｔａｎｇ Ｘ．ｅｔ ａｌ．（２００４）“Ｄｅｓｉｇｎ ｏｆ ｆｒｅｅｚｅ－ｄｒｙｉｎｇ ｐｒｏｃｅｓｓｅｓ ｆｏｒ ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ：Ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｄｖｉｃｅ，”Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．，２１：１９１－２００、Ｎａｉｌ Ｓ．Ｌ．ｅｔ ａｌ．（２００２）タンパク質製剤の開発及び製造中の“凍結乾燥の基礎”、Ｎａｉｌ ＳＬ編、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ：Ｋｌｕｗｅｒ Ａｃａｄｅｍｉｃ／Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，ｐｐ２８１－３５３；Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．（２０００）“Ｌｙｏｐｈｉｌｉｚａｔｉｏｎ ａｎｄ ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｏｆ ｓｏｌｉｄ ｐｒｏｔｅｉｎ ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，”Ｍ Ｊ Ｐｈａｒｍ．，２０３：１－６０、Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＮＡ ｅｔ ａｌ．（１９８４）“Ｔｈｅ ｌｙｏｐｈｉｌｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ；Ａ ｌｉｔｅｒａｔｕｒｅ ｒｅｖｉｅｗ．”Ｊ．Ｐａｒｅｎｔｅｒａｌ Ｓｃｉ．Ｔｅｃｈｎｏｌ，３８：４８－５９、及びＷＯ２０１０／１４８３３７ Ａ１を参照されたい。

【００８２】

凍結乾燥プロセスを通じての温度及び圧力の変化のために、本明細書に開示されるポリペプチドが凍結乾燥及び貯蔵中に分解（例えば、タンパク質凝集、脱アミド化、及び／または酸化）するのを防ぐために、賦形剤または安定化剤、緩衝剤、増量剤、及び界面活性剤等の他の成分の適切な選択が必要である。本明細書に開示する凍結乾燥組成物は、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換インターロイキン－２（ＩＬ－２）を含む、本明細書に開示するポリペプチドの安定した長期保存を可能にする構成成分の特定の組み

合わせを含有する。

【００８３】

別の態様において、本開示は、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換インターロイキン－２（ＩＬ－２）を含む、本明細書に開示される水性組成物のうちのいずれか１つを凍結乾燥することによって作製される凍結乾燥組成物を提供する。特定の実施形態において、凍結乾燥組成物は、凍結乾燥ケーキである。特定の実施形態において、凍結乾燥組成物は、表２、表３、または表４に列挙される凍結乾燥プロトコルに従って、本明細書に開示される水性組成物のうちのいずれか１つを凍結乾燥させることによって作製される。

【００８４】

別の態様において、本開示は、凍結乾燥組成物を作製する方法を提供し、本方法は、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換インターロイキン－２（ＩＬ－２）を含む、本明細書に開示される水性組成物のうちのいずれか１つを凍結乾燥することを含む。特定の実施形態において、凍結乾燥組成物を作製する方法は、表２、表３、または表４に記載の凍結乾燥プロトコルに従うことを含む。

【００８５】

別の態様において、本開示は、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換インターロイキン－２（ＩＬ－２）を含む、本明細書に開示される凍結乾燥組成物のうちのいずれか１つを水性溶媒中に溶解することを含む、水性組成物を作製する方法を提供する。特定の実施形態において、凍結乾燥組成物は、凍結乾燥ケーキである。特定の実施形態において、凍結乾燥組成物は、２．２ｍｌの水に溶解される。特定の実施形態において、凍結乾燥組成物は、塩化ナトリウム溶液に溶解される。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液は、約０．１％のＮａＣｌ～約０．５％のＮａＣｌを含む。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液は、約０．１２％のＮａＣｌ～約０．４１％のＮａＣｌを含む。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液は、約０．１０％、０．１１％、０．１２％、０．１３％、０．１４％、０．１５％、０．１６％、０．１７％、０．１８％、０．１９％、０．２０％、０．２１％、０．２２％、０．２３％、０．２４％、０．２５％、０．２６％、０．２７％、０．２８％、０．２９％、０．３０％、０．３１％、０．３２％、０．３３％、０．３４％、０．３５％、０．３６％、０．３７％、０．３８％、０．３９％、０．４０％、０．４１％、０．４２％、０．４３％、０．４４％、０．４５％、０．４６％、０．４７％、０．４８％、０．４９％、または０．５０％のＮａＣｌを含む。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液は、約０．０２ＭのＮａＣｌ～約０．０７ＭのＮａＣｌを含む。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液は、約０．０２Ｍ、０．０３Ｍ、０．０４Ｍ、０．０５Ｍ、０．０６Ｍ、または０．０７ＭのＮａＣｌを含む。特定の実施形態において、水性組成物は、塩化ナトリウム溶液に溶解されたとき約２４０～約３４０ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を備える。特定の実施形態において、塩化ナトリウム溶液に溶解された水性組成物は、皮下投与を介して投与され得る。

【００８６】

ポリペプチド組成物の使用

本明細書に開示される組成物は、インターロイキン２受容体シグナル伝達に関連する任意の疾患または障害の治療、予防、または改善に特に有用である。

【００８７】

一態様において、対象においてナチュラルキラー細胞（ＮＫ）細胞を活性化する方法であって、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２を含む本明細書に開示される有効量の組成物のうちのいずれか１つを対象に投与することを含む方法が提供される。

【００８８】

別の態様において、がんを治療する必要のある対象においてがんを治療する方法であって、ＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２を含む、本明細書に開示される有効量の組成物のうちのいずれか１つを対象に投与することを含む方法が提供される

。本明細書に開示される組成物を用いた治療に好適ながんとしては、腎細胞癌、黒色腫、卵巣癌、及び肺癌が挙げられる。特定の実施形態において、がんは、難治性固形腫瘍を含む。

【００８９】

特定の実施形態において、組成物は、静脈内投与される。

【００９０】

特定の実施形態において、組成物は、約１μｇ／ｋｇ～約１５μｇ／ｋｇの用量で静脈内投与される。特定の実施形態において、組成物は、約１μｇ／ｋｇ、約２μｇ／ｋｇ、約３μｇ／ｋｇ、約４μｇ／ｋｇ、約５μｇ／ｋｇ、約６μｇ／ｋｇ、約７μｇ／ｋｇ、約８μｇ／ｋｇ、約９μｇ／ｋｇ、約１０μｇ／ｋｇ、約１１μｇ／ｋｇ、約１２μｇ／ｋｇ、約１３μｇ／ｋｇ、約１４μｇ／ｋｇ、または約１５μｇ／ｋｇの用量で静脈内投与される。

【００９１】

特定の実施形態において、組成物は、５日間連続して毎日静脈内投与される。

【００９２】

特定の実施形態において、組成物は、５日間連続して毎日静脈内投与され、その後、９日間連続して組成物を静脈内投与されない。

【００９３】

特定の実施形態において、組成物は、５日間連続して毎日静脈内投与され、その後、１６日間連続して組成物を静脈内投与されない。

【００９４】

特定の実施形態において、組成物は、１）連続した５日間毎日組成物の静脈内投与を行うことと、それに続く、９日間連続して組成物の静脈内投与を行わないことと、を含む第１のサイクル、及び２）連続した５日間毎日組成物の静脈内投与を行うことと、それに続く、１６日間連続して組成物の静脈内投与を行わないことと、を含む第２のサイクル、を伴って投与される。

【００９５】

特定の実施形態において、本方法は、少なくとも１つの追加の投与サイクルを含み、各追加のサイクルは、組成物は、５日間連続して毎日静脈内投与を行うことと、それに続く、１６日間連続して組成物の静脈内投与を行わないことと、を含む。

【００９６】

特定の実施形態において、組成物は、皮下投与される。

【００９７】

特定の実施形態において、方法は、約２４０～約３４０ｍＯｓｍ／ｋｇの重量オスモル濃度を備える上記の水性組成物の皮下投与を含む。

【００９８】

特定の実施形態において、組成物は、約１ｍｇ～約１５ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約１ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約２ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約３ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約４ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約５ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約６ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約７ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約８ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約９ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約１０ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約１１ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約１２ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約１３ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約１４ｍｇの用量で皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約１５ｍｇの用量で皮下投与される。

【００９９】
特定の実施形態において、組成物は、週１回（Ｑ１Ｗ）、２週間に１回（Ｑ２Ｗ）、または３週間に１回（Ｑ３Ｗ）皮下投与される。
【０１００】
特定の実施形態において、組成物は、約１ｍｇ～約１５ｍｇの用量で、週１回（Ｑ１Ｗ）、２週間に１回（Ｑ２Ｗ）、または３週間に１回（Ｑ３Ｗ）皮下投与される。
【０１０１】
特定の実施形態において、組成物は、約３ｍｇの用量で、週１回（Ｑ１Ｗ）皮下投与される。特定の実施形態において、組成物は、約６ｍｇの用量で、３週間に１回（Ｑ３Ｗ）皮下投与される。
【０１０２】
特定の実施形態において、黒色腫は、粘膜黒色腫または進行性皮膚黒色腫のうちの一方または両方である。
【０１０３】
本明細書に開示される実施形態の範囲から逸脱することなく、本明細書に記載される方法の他の好適な修正及び適合が、好適な等価物を用いて行われ得ることは、当業者には容易に明白であろう。ここで特定の実施形態を詳細に説明してきたので、以下の実施例を参照することにより、同様のことがより明確に理解されるであろう。以下の実施例は、例示のためにのみ含まれ、限定することを意図するものではない。
【実施例】
【０１０４】
本発明は、更なる限定として解釈されるべきではない以下の実施例によって更に例示される。本発明の実践には、別段指示されない限り、当該技術分野の技能の範囲内である、有機合成、細胞生物学、細胞培養、分子生物学、トランスジェニック生物学、微生物学、及び免疫学の従来の技法が用いられる。
【０１０５】
実施例１－ポリペプチド組成物の設計及び試験
ポリペプチドＡ（配列番号１のアミノ酸を含むＩＬ－２Ｒα鎖の細胞外部分に融合した循環置換ＩＬ－２）の最適な製剤を決定するために、ポリペプチドＡのいくつかの製剤を、タンパク質安定性、ｐＨ安定性、生理化学的挙動、凍結乾燥ケーキ均一性、及び凍結乾燥後の保管バイアルへの付着に対する耐性への影響について試験した。以下の表１は、試験された各製剤の特定の成分及びそれらの濃度を列挙する。異なる組成物を、以下の表２～４に列挙される凍結乾燥サイクルプロトコルのうちの１つに供した。

【表１】

表１：ポリペプチドA製剤の構成成分

成分	製剤 1	製剤 2	製剤 3
増量賦形剤 (濃度)	スクロース (50mg/mL)	マンニトール (50mg/mL)	スクロース (50mg/mL)
緩衝液 (濃度)	グリシン (10mg/mL)	グリシン (10mg/mL)	ヒスチジン (10mg/mL)
界面活性剤 (濃度)	ポリソルベート 20 (0.1 mg/mL)	ポリソルベート 20 (0.1 mg/mL)	ポリソルベート 20 (0.1 mg/mL)
緩衝液 pH	5.9	5.7	6.5
密度	1.020 g/mL	1.021 g/mL	1.018 g/mL
濾過後 pH	6.6	6.6	6.5
濾過後のポリペプチドAの濃度	0.75 mg/mL	0.96 mg/mL	0.79 mg/mL
成分	製剤 4	製剤 5	製剤 6
増量賦形剤 (濃度)	スクロース (50mg/mL)	なし	スクロース (50mg/mL)
緩衝液 (濃度)	クエン酸ナトリウム (3mg/mL)	コハク酸 (40mg/mL)	メチオニン (10mg/mL)
界面活性剤 (濃度)	ポリソルベート 20 (0.1 mg/mL)	ポリソルベート 20 (0.1 mg/mL)	ポリソルベート 20 (0.1 mg/mL)
緩衝液 pH	6.3	5.5	5.9
密度	1.015 g/mL	1.021 g/mL	1.011 g/mL
濾過後 pH	6.1	5.4	6.3
濾過後のポリペプチドAの濃度	1.03 mg/mL	1.00 mg/mL	0.85 mg/mL

【表２】

表２：凍結乾燥サイクル－２ｍｇバイアル

セグメント	種類	温度設定点 (℃)(±5℃)	時刻設定点 (時間) (±0.5 時間)	チャンバー圧力設定点 (μmHg) (±20 μmHg)
1	保持	5	4.0	≦14.7 psia
2	ランプ	-50	3.7	≦14.7 psia
3	保持	-50	7.0	≦14.7 psia
4	排気	-50		40
5	ランプ	-28	0.7	40
6	保持	-28	60	40
7	ランプ	25	3.5	40
8	保持	25	9	40
9	栓	25		14.7 psia ± 0.7 psia

【表３】

表３：凍結乾燥サイクル－１０ｍｇバイアル

セグメント	種類	温度設定点 (℃)(±5℃)	時刻設定点 (時間)(±0.5 時間)	チャンバー圧力設定点 (μmHg)(±20 μmHg)
1	保持	5	4.0	≦14.7 psia
2	ランプ	-50	1.8	≦14.7 psia
3	保持	-50	4.0	≦14.7 psia
4	排気	-50		30
5	ランプ	-28	0.7	30
6	保持	-28	66	30
7	ランプ	25	3.5	30
8	保持	25	9	30
9	栓	25		14.7 ± 0.7 psia

【表４】

表４：凍結乾燥サイクル－３０ｍｇバイアル

セグメント	種類	温度設定点 (℃)(±5℃)	時刻設定点 (時間)(±0.5 時間)	チャンバー圧力設定点 (μmHg)(±20 μmHg)
1	保持	5	4.0	≦14.7 psia
2	ランプ	-45	2.8	≦14.7 psia
3	保持	-45	4.0	≦14.7 psia
4	排気	-45		50
5	ランプ	-25	0.8	50
6	保持	-25	66	50
7	ランプ	30	3.1	50
8	保持	30	8	50
9	栓	30		14.7 ± 0.7 psia

【０１０６】

生理化学試験

製剤１～６におけるポリペプチドＡの生理化学的挙動は、低温で、電気抵抗を測定し、凍結乾燥顕微鏡法を実施し、示差走査熱量測定を実施することによって特徴付けられた。

【０１０７】

電気抵抗

０～２０メガオームの抵抗測定器及びセラミックプレート上の２つの平行な金の条片からなるセラミック抵抗プローブを使用して、２０ｍｍのガラス試料チューブ内の約１．８ｍＬの試料の抵抗を測定した。温度を、金プレートの反対側のセラミックプローブに位置する３２ゲージのＴ型熱電対を使用して測定した。測定及び記録機器は、米国国立標準技術研究所（ＮＩＳＴ）のトレーサブルな参照基準を使用して、分析に使用される温度範囲にわたって較正された。標準基準溶液を用いてシステムの精度を検証した。

【０１０８】
標準方法を使用して、材料固有の相転移を確証するために、材料を毎分０．５℃の平均制御速度で冷却、加温し、その熱特性を評価した。抵抗試料を大気条件で分析した。抵抗の偏差を使用して、加温時の相転移のオンセットを決定した。温度測定は、Ｋａｙｅ　Ｖａｌｉｄａｔｏｒ機器とＣｏｌｌｅｃｔプログラムを使用して、全ての分析中に１０秒ごとに記録した。
【０１０９】
凍結乾燥顕微鏡法
約０．１５ｍＬの溶液をガラスセルに分配した。次いで、セルを温度制御凍結乾燥ステージに置いた。試料セルには、試料温度を監視するために、セルの底部及び中央の材料に直接配置された２つの３２ゲージのＴ型熱電対が装備された。液体試料を、毎分０．５℃の平均制御速度で、－５０℃以下の目標設定点まで冷却した。凍結が完了すると、ステージチャンバを排気して氷の昇華を開始した。次いで、昇華及び乾燥中に、ステージを毎分０．５℃の平均制御速度で加温した。凍結及び乾燥中の試料の挙動は、Ｓｕｐｅｒ　ＷＤＲ　ＣＣＤ　Ｃａｍｅｒａに結合された１６～３３０Ｘの倍率が可能なＩｎｆｉｎｉｖａｒ　Ｍｉｃｒｏｓｃｏｐｅを使用して観察した。相転移を超える材料を反映する試料の凍結部分及び乾燥部分の観察された変化は、試料温度と相関した。温度測定は、Ｃｏｌｌｅｃｔプログラムを使用したＫａｙｅ　Ｖａｌｉｄａｔｏｒ機器を使用して、全ての分析中に１０秒ごとに記録した。
【０１１０】
示差走査熱量測定
低温示差走査熱量測定（ＬＴ　ＤＳＣ）を、相転移を決定するための凍結及び加温中の生理化学的挙動を評価する手段として、上述の分析と併せて使用した。ＬＴ　ＤＳＣ解析は、現在のＵＳＰ＜８９１＞に従い、ＴＡ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ　Ｑ２００　ＤＳＣを使用して実施した。ＴＡ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ　Ｑ２００　ＤＳＣは、冷凍冷却システムを使用して操作した。試験パラメータは、ＴＡ　Ａｄｖａｎｔａｇｅソフトウェア（ｖ５．０．４）を使用して実施した。スキャンデータを記録し、ＴＡ　Ｕｎｉｖｅｒｓａｌ　Ａｎａｌｙｓｉｓソフトウェア（ｖ４．５Ａ）を使用してグラフ化した。１９．４ｍｇの試料サイズの溶液を、蓋を所定の位置に圧着したアルミニウム試料パンに入れた。窒素、ＮＦを使用して、試料を５０ｍｌ／分の流速で連続的にパージした。機器は、Ｌｙｏｐｈｉｌｉｚａｔｉｏｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．の較正プログラムに従って較正した。冷却及び加温中、試料の発熱または吸収は、試料が熱的イベントを受けるときのエネルギーの違いを反映する。熱エネルギーのこの差は、結果の分析のために記録される。
【０１１１】
生理化学的挙動の特徴付けの結果
生理化学的挙動の特徴付けの結果は、配合物４が、反転及び衝撃の際に無傷のままの均一な外観を有する凍結乾燥ケーキをもたらし、凍結乾燥の際にバイアルの側面及び底部に付着した最小限の残留物質をもたらし、最も高いガラス転移特性を有したことを明らかにした。製剤４の結果は、試験した他の全ての製剤よりも優れていた。更に、他の試験された製剤は、凍結乾燥ポリペプチドＡ組成物を生成するための安定した凍結乾燥サイクルを得ることができなかった。
【０１１２】
安定性試験
製剤１～６におけるポリペプチドＡの安定性は、毛管等電点電気泳動（ｃＩＥＦ）、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、及び活性アッセイを使用して特徴付けた。
【０１１３】
毛管等電点電気泳動（ｃＩＥＦ）
ｃＩＥＦを使用して、試験した製剤中の電荷変異体の存在を測定した。製剤試料を、２

．２ｍＬの注射用水（ＷＦＩ）中で試料を再構成することによって調製した。試料を目視検査し、内容物に目に見える微粒子がないことを確認した。以下の式：「試薬の体積」＝［（「ｎ＋２」）×「Ｖ」］を使用して、下記の表から必要とされる各試薬の体積を計算することにより、マスター混合物を調製することによって、分析のために参照標準物質、試料、及びブランクを調製した（式中、ｎ＝試料の数、Ｖ＝試料当たりの試薬の体積（μＬ）（以下の表５を参照されたい）。）

【表５】

表５：ｃＩＥＦ分析用試薬混合物

試薬(総容量 200μL)	V (μL/試料)
1%メチルセルロース(最終濃度 0.35%)	70
Pharmalyte 5-8 (最終濃度 3%)	6
Pharmalyte 3-10 (最終濃度 1%)	2
pI 5.12 マーカー	0.5
pI 7.90 マーカー	0.5

【０１１４】

計算された体積の試薬を適切なサイズのチューブに添加し、ボルテックスして混合した。ブランクは、１５８μＬのマスター混合物を１．５ｍＬのマイクロ遠心チューブに移すことによって調製し、２４２μＬのＷＦＩをチューブに添加し、穏やかにボルテックスして混合した。ポリペプチドＡ参照標準物質を、ブランクと同じ方法で調製した。試料は、各試料についてマスター混合物７９μＬを１．５ｍＬのチューブに移すことによって調製し、１２１μＬの試料をチューブに添加し、穏やかにボルテックスして混合した。使用される注入シーケンス及び分析条件は、それぞれ表６及び７に記載される。分析のために、ｐＩマーカー間の全てのピークが積分される。結果は、全てのピークのｐＩ及び面積％が０．０５％以上であることを報告することによって計算した。

【表６】

表６：ｃＩＥＦ分析に使用した注入シーケンス

試料番号	注入回数
ブランク	1
ポリペプチドＡ参照標準物質	1
試料	各 1 個
ポリペプチドＡ参照標準物質	1
ブランク	1

【表７】

表７：ｃＩＥＦ分析に使用した分析条件

トレイの種類:	4 つの濯ぎバイアルを有する 48 バイアルトレイ
トレイの温度:	5.0℃
フォーカス期間 1:	1.00 分間 1500V
フォーカス期間 2:	7.00 分間 3000V

【０１１５】

サイズ排除ＨＰＬＣ

サイズ排除ＨＰＬＣを使用して、試験した製剤中の純度を測定した。製剤試料を２．２

ｍＬのＷＦＩ中で再構成することによって調製した。試料を目視検査し、内容物に目に見える微粒子がないことを確認した。以下の分析条件及び表８及び９にそれぞれ示される注入シーケンスを使用して、参照標準物質、試料、及びブランクを分析のために試験した。

【表８】

表８：ＨＰＬＣ分析に使用した分析条件

移動相	50 mM のリン酸 Na、200 mM の NaCl、pH 7.2
実行時間	15 分
流速	1.0 mL/分
カラム	TSKgel G2000SW$_{XL}$、7.8 mm ID x 30 cm、5μm
カラム温度	25℃±5℃
試料温度	5℃±3℃
検出	280 nm における紫外線吸光度
注入体積	100 μL

【表９】

表９：ＨＰＬＣ分析に使用した注入シーケンス

試料番号	注入回数
移動相	1+
製剤バッファブランク	1
ゲル濾過スタンダード(GFS)	1
ポリペプチドＡ参照標準物質	1
試料	1
ポリペプチドＡ参照標準物質	1
ゲル濾過スタンダード(GFS)	1

【０１１６】

結果を、０．０５％の面積を超える全ての積分ピークの面積％及び溶出時間として報告した。図２及び図３は、試験した各製剤のＳＥＣピークを示す。

【０１１７】

細胞ベースの活性アッセイ

各製剤中のポリペプチドＡの活性を、製剤のＨＨ細胞（それらの表面に存在するβγＩＬ２受容体アイソフォームを有するヒトＴリンパ球細胞株）への結合を測定することによって評価した。ポリペプチドＡ結合は、ＥＬＩＳＡアッセイを使用して、各製剤との接触後にＨＨ細胞内に存在するリン酸化ＳＴＡＴ５（ホスホ－ＳＴＡＴ５またはｐＳＴＡＴ５）の量を決定することによって測定した。Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　ＩｎｓｔａｎｔＯｎｅ ＥＬＩＳＡ蛍光体－ＳＴＡＴ５アルファ／ベータ（ｐＴｙｒ６９４／ｐＴｙｒ６９９）キットを使用して、ＥＬＩＳＡアッセイを実施した。

【０１１８】

製剤試料を２．２ｍＬのＷＦＩ中で試料を再構成することによって調製した。試料を目視検査し、内容物に目に見える微粒子がないことを確認した。

【０１１９】

試料希釈液を、５００ｍＬのハンクス平衡塩溶液（ＨＢＳＳ）に２５ｍＬの胎児ウシ血清（ＦＢＳ）を加えて最終濃度が５％ＦＢＳとなるように調製し、３７℃まで温めた。０．０５％のＴｗｅｅｎ２０を有するリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）を含む洗浄緩衝液を使用した。

【０１２０】

アッセイにおいて、試料及び標準物質を、７５０ｎｇ／ｍＬ、２５０ｎｇ／ｍＬ、８３ｎｇ／ｍＬ、２８ｎｇ／ｍＬ、９．３ｎｇ／ｍＬ、３．１ｎｇ／ｍＬ、１．０ｎｇ／ｍＬ、及び０．３ｎｇ／ｍＬの最終タンパク質濃度まで希釈した。およそ１．２×１０^{6}細胞／ｍＬの密度のＨＨ細胞のストック溶液を調製し、細胞ストック溶液５０μｌを、希釈試料または標準物質を含有する９６ウェルプレートの各ウェルに添加した。細胞を３７℃で３０分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を１０分間かけて細胞溶解緩衝液中で溶解した。溶解後、５０μｌの溶解細胞混合物をＥＬＩＳＡプレートに移し、続いて５０μｌのホスホ－ＳＴＡＴ５Ａ／Ｂ抗体カクテルを移した。次いで、混合物を１時間インキュベートし、洗浄緩衝液で３回洗浄した。次いで、１００μｌの検出試薬を各ウェルに添加し、プレートを１５分間インキュベートした。次いで、１００μｌの停止溶液を各ウェルに添加し、プレートをマイクロプレートリーダー上で４５０ｎｍにて読み取った。

【０１２１】

個々のＥＣ５０値を測定し、参照標準ＥＣ５０値及び対照ＥＣ５０値について％相対標準偏差（ＲＳＤ）を計算した。

【０１２２】

参照基準についての３つのＥＣ５０値の幾何平均（参照基準ＥＣ５０ＧＭ）及び対照についての３つのＥＣ５０値の幾何平均（対照ＥＣ５０）を計算した。対照の相対効力を、以下の式を使用して計算した：相対効力＝（参照基準ＥＣ５０ＧＭ）／（対照ＥＣ５０）×１００％。

【０１２３】

試料を同じ方法で計算した。アッセイの結果を、以下の式によって決定した。相対効力＝（参照基準ＥＣ５０ＧＭ）／（試験試料ＥＣ５０）×１００％。

【０１２４】

ＨＨ細胞株ベースの活性アッセイの結果は、試験した様々な製剤においてポリペプチドＡが活性を維持したことを実証した（図１）。

【０１２５】

安定性試験結果

前述の安定性の特徴付けの結果は、製剤４が、ｐＨ及びポリペプチドＡのタンパク質安定性を維持する点で試験した他の製剤よりも優れていることを明らかにした。

【０１２６】

実施例２－異なる緩衝成分のスクリニング及びそれらの安定性への影響

ＰＨ６．０～７．０の範囲での薬学的使用に適したいくつかの緩衝液を、示差走査熱量測定及び熱ストレスに基づくスクリーニングのためのＯＤ３５０時間経過アッセイ、ならびに振盪ストレスに基づくスクリーニングのためのマイクロフローイメージングを使用して、ポリペプチドＡに対する安定化効果についてスクリーニングした。

【０１２７】

ポリペプチドＡ（当初、ＰＢＳ緩衝液中１１．６ｍｇ／ｍＬ）を、ｐＨ６．０の５つの緩衝液（１０ｍＭのヒスチジン、１０ｍＭのクエン酸塩、１００ｍＭのクエン酸塩、１０ｍＭのリン酸塩、または１０ｍＭのコハク酸塩）のうちの１つで透析した。透析は、４℃で、１０，０００Ｄａの分子量カットオフ及び３ｍＬの容量を有するＳｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒカセットを使用して、１：５００＋の透析液体積と緩衝液体積の比で、４＋時間間隔で２回の緩衝液交換を行い、透析液回収前に一晩インキュベーションすることにより実施した。透析液を、濾過した（０．２μｍ）透析緩衝液で１．０ｍｇ／ｍＬのポリペプチドＡへと希釈した。次いで、これらの試料に対してアッセイを３連で行った。マイクロフローイメージングでは、２回分の各試料３ｍＬを５ｍＬのバイアルに添加し、バイアルを３００ｒｐｍで３日間振盪した後、２回分をプールした。３ｍＬの緩衝液も、緩衝液差し引き及びブランキングのために同じ条件下で振盪した。

【０１２８】

示差走査熱量測定（ＤＳＣ）

オートサンプラーを装備したＭｉｃｒｏＣａｌ毛管示差走査熱量計を使用して、１ｍｇ／ｍＬのポリペプチドＡ濃度の全ての試料に対してＤＳＣ実験を３連で行った。試料を１０℃から９０℃まで６０℃／時間の速度で加熱し、サーモグラムを記録した。各注入の間に試料及び参照セルを洗浄した。データは、Ｏｒｉｇｉｎ７のＭｉｃｒｏＣａｌ分析パッケージアドオンを使用して分析し、同じｘ軸値に補間して、アベレージングを実行することができるようにした。

【０１２９】

図４は、緩衝液組成物の関数としてのサーモグラムのＴｍ値を示す。１０ｍＭのクエン酸塩のＴｍ値は、全ての試料の中で最も高く、１０ｍＭのヒスチジン緩衝液は、比較的低いＴｍ値を有した。

【０１３０】

ＯＤ３５０時間経過（動態）アッセイ

ＯＤ３５０時間経過（動態）アッセイを、キュベット当たり２６０μＬのタンパク質溶液の体積を使用して、Ｃａｒｙ　１００　ＵＶ－Ｖｉｓｉｂｌｅ分光光度計にて３連で行った。３５０ｎｍでの光学密度は、５分ごとに測定され、アベレージング時間は２秒であったが、温度は７２℃の一定値で保持された。全てのデータをＯｒｉｇｉｎラボにインポートし、アベレージングを実行できるように同じＸ軸値に補間した。

【０１３１】

ポリペプチドＡ試料について、ＯＤ３５０値を５分ごとに８時間、７２℃の一定の温度において３連で収集した。図５は、８時間後の平均ＯＤ３５０値を示す。７２℃で８時間後、クエン酸緩衝液を含有する試料は、最小のＯＤ３５０値を有した。

【０１３２】

マイクロフローイメージング

２～７０μｍの範囲のサブ視認性粒子を、１００μｍのシランコートされたフローセルを有するＭＦＩ　ＤＰＡ－４２００（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｉｍｐｌｅ，Ｓａｎｔａ　Ｃｌａｒａ，ＣＡ）システムを使用して調べた。測定の前に、１０μｍポリスチレン粒子標準物質（Ｄｕｋｅ）を使用して、機器を較正した。測定は、全ての試料について、周囲温度において３連で行った。セルを、粒子を含まない水でフラッシュし、全ての測定の前に粒子を含まない水を使用して照明を最適化した。試料を低タンパク質結合フィルターチップピペット（Ｎｅｐｔｕｎｅ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）内で慎重に作成し、０．２ｍＬ／分の流速を使用して分析した。各測定のパージ体積は０．４ｍＬであり、試料０．６ｍＬを分析した。

【０１３３】

ＭＦＩは、３００ｒｐｍで３日間振盪した後、全てのポリペプチドＡ試料に対して３連で実施し、結果を図６に示す。１０ｍＭヒスチジン中の試料は、３日間の揺動後に最も高い総サブ可視粒子濃度を有し、１０ｍＭクエン酸塩中の試料は、最も低い総サブ可視粒子濃度を有した。

【０１３４】

緩衝液スクリーニングの結論

１０ｍＭのヒスチジン中のポリペプチドＡの試料は、７２℃のときにおける最も低い熱安定性、最も高い初期ＯＤ３５０、及び３日間の振盪ストレス後における最も高い総サブ視覚粒子濃度を有した。クエン酸緩衝液中の試料は、７２℃のときにおける最も低いＯＤ３５０、３日間の振盪ストレス後の最も低い総粒子濃度、及びＤＳＣデータ中の試料の最も高い熱安定性の中で最も低いＯＤ３５０を有した。

【０１３５】

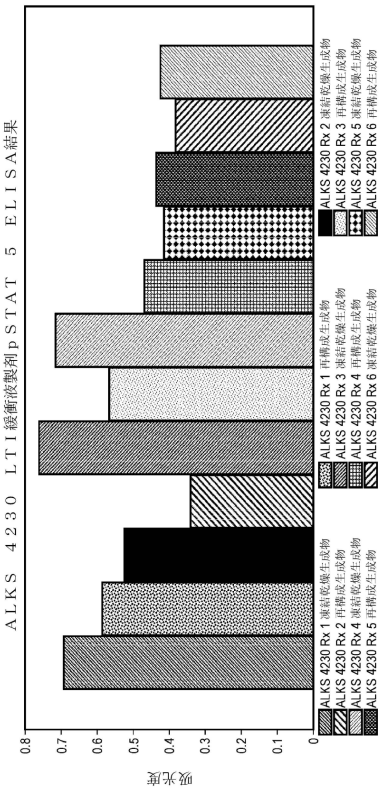
実施例３－スクロースを有するクエン酸塩ならびにスクロース及びポリソルベート２０を有するクエン酸塩とのヒスチジン緩衝液の比較

３ｍｇ／ｍＬのクエン酸塩、５０ｍｇ／ｍＬのスクロース、ｐＨ６．１中のポリソルベート２０の存在が、振盪ストレスの関数として全サブ視覚性粒子濃度に及ぼす影響を決定するために、マイクロフローイメージングを行った。試験した緩衝液は、１０ｍＭのヒス

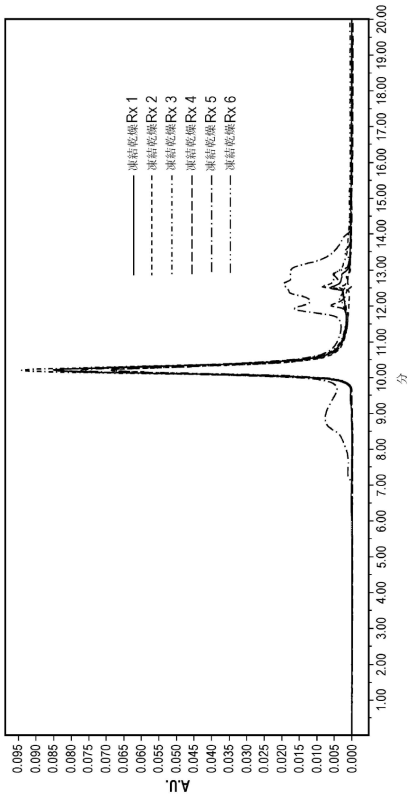
チジン、５０ｍｇ／ｍＬのスクロースを有する３ｍｇ／ｍＬのクエン酸塩、ならびに５０ｍｇ／ｍＬのスクロース及び０．０１％のポリソルベート２０を有する３ｍｇ／ｍＬのクエン酸塩であった。３００ｒｐｍでの３日間の振盪後、マイクロフローイメージングにより、全てのポリペプチドＡ試料の総サブ視認性粒子濃度を３連で測定し、結果を図７に示す。総サブ可視粒子濃度は、ポリソルベート２０を有する試料において最も低かった。

【図面】

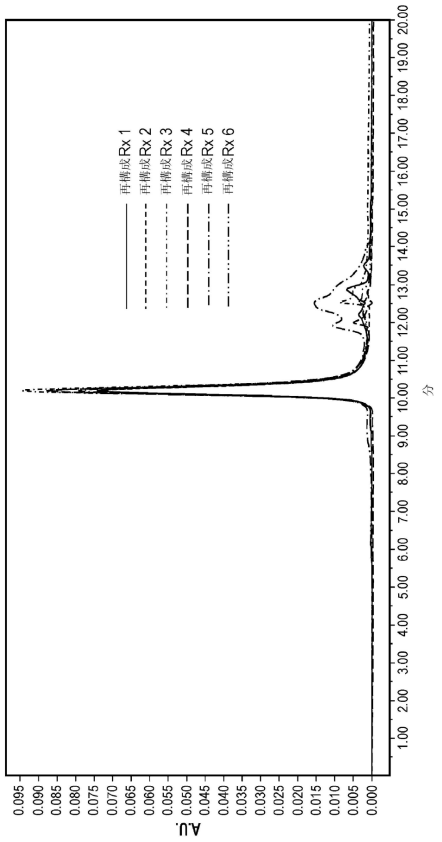
【図１】



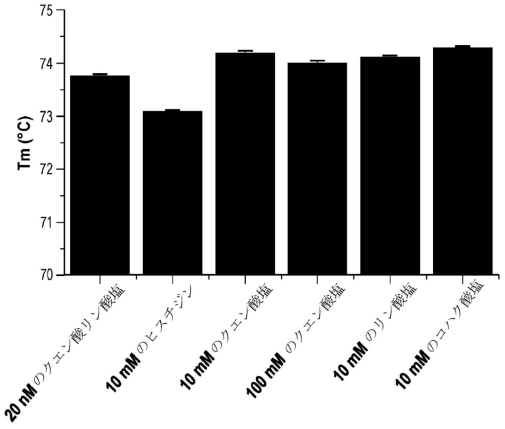
【図２】



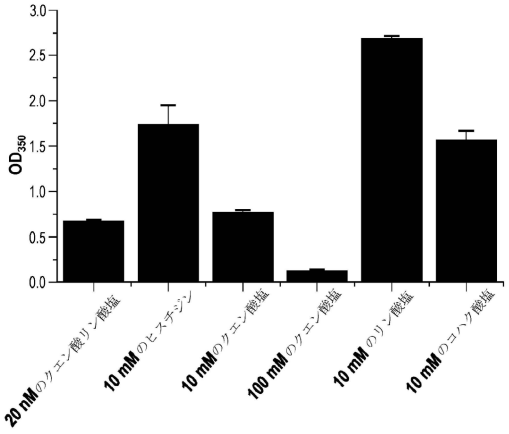
【図３】


再構成Rx 1
再構成Rx 2
再構成Rx 3
再構成Rx 4
再構成Rx 5
再構成Rx 6
A.U.
分

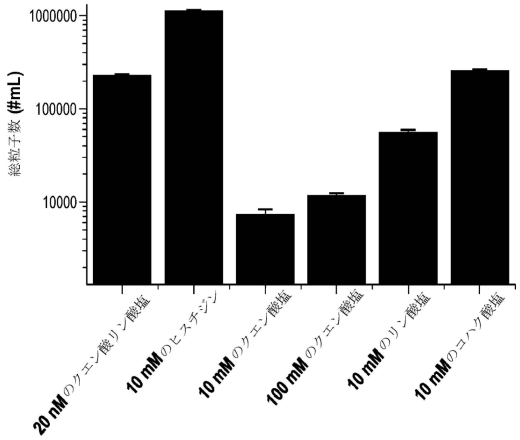
【図４】


Tm (°C)
20 mMのクエン酸リン酸塩
10 mMのヒスチジン
10 mMのクエン酸塩
100 mMのクエン酸塩
10 mMのリン酸塩
10 mMのコハク酸塩

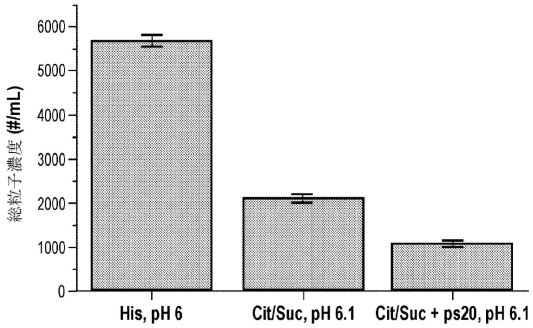
【図５】


OD350
20 mMのクエン酸リン酸塩
10 mMのヒスチジン
10 mMのクエン酸塩
100 mMのクエン酸塩
10 mMのリン酸塩
10 mMのコハク酸塩

【図６】


総粒子数 (#/mL)
20 mMのクエン酸リン酸塩
10 mMのヒスチジン
10 mMのクエン酸塩
100 mMのクエン酸塩
10 mMのリン酸塩
10 mMのコハク酸塩

【図７】



【配列表】

2023525565000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US21/31611

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - A61K 38/20; A61P 35/00; C07K 16/28 (2021.01)
CPC - A61K 38/20; A61P 35/00; C07K 16/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2016/0175458 A1 (ALKERMES, INC.) 23 June 2016; paragraphs [0155], [0160], [0183], [0187]	1-6
Y	US 2018/0318293 A1 (ALKERMES PHARMA IRELAND LIMITED) 08 November 2018; paragraph [0253]; Table 16	1-6
P,X	WO 2021/074689 A1 (ALKERMES PHARMA IRELAND LIMITED) 22 April 2021; entire document	1-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 August 2021 (26.08.2021)	OCT 15 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US21/31611

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US21/31611

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 7-85
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ　9/08	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/08	
Ａ６１Ｐ　35/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00	
Ａ６１Ｐ　43/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１０７
Ａ６１Ｐ　37/04	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04	
Ｃ０７Ｋ　19/00	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	19/00	
Ｃ０７Ｋ　14/55	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/55	
Ｃ０７Ｋ　14/705	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/705	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

(72)発明者　マユール・カラリヤ
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・０１７４８・ホプキントン・オータム・リッジ・ドライブ・１１
(72)発明者　フランシスカ・オー・グボルミッタ
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・０１７１８・アクトン・バターナット・ホロー・１５４

Ｆターム（参考）　4C076　AA12 BB11 CC27 DD08E DD08F DD23 DD23D DD38 DD46E DD46F DD67 FF11 FF15 FF16 FF68
4C084　AA02 AA03 BA44 DA12 MA05 MA17 MA66 NA03 ZB09 ZB22 ZB26
4H045　AA10 AA30 BA10 BA41 CA40 DA04 DA50 EA20