

【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】令和6年11月11日(2024.11.11)

【公開番号】特開2024-73531(P2024-73531A)

【公開日】令和6年5月29日(2024.5.29)

【年通号数】公開公報(特許)2024-098

【出願番号】特願2024-38103(P2024-38103)

【国際特許分類】

C 12 P 21/08(2006.01)

10

C 07 K 16/00(2006.01)

C 12 N 15/13(2006.01)

C 12 N 1/19(2006.01)

C 12 N 15/63(2006.01)

A 61 K 39/395(2006.01)

C 07 K 14/47(2006.01)

C 07 K 16/46(2006.01)

C 07 K 19/00(2006.01)

【F I】

C 12 P 21/08 Z N A

20

C 07 K 16/00

C 12 N 15/13

C 12 N 1/19

C 12 N 15/63 Z

A 61 K 39/395 Y

C 07 K 14/47

C 07 K 16/46

C 07 K 19/00

【手続補正書】

30

【提出日】令和6年10月31日(2024.10.31)

【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】

少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドの生成方法であって、該方法は、ピキア宿主において該ポリペプチドを発現させる工程、及び該ピキア宿主において補助タンパク質HAC1スプライシング型(配列番号14)の発現を同時に増強させる工程を含み、ここで、該少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインは、重鎖可変ドメイン又はその断片である、前記方法。

40

【請求項2】

ポリペプチドを単離及び/又は精製する工程をさらに含む、請求項1の方法。

【請求項3】

緩衝液中でポリペプチドを製剤化する工程をさらに含む、請求項1又は2のいずれかの方法。

【請求項4】

ポリペプチドを医薬組成物として製剤化する工程をさらに含む、請求項1~3のいずれ

50

かの方法。

【請求項 5】

少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドを発現するか又は適切な環境下で発現することのできるピキア宿主であって、ここで 補助タンパク質 H A C 1 スプライシング型（配列番号 14） の発現が増強され、該少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインは、重鎖可変ドメイン又はその断片である前記宿主。

【請求項 6】

H A C 1 スプライシング型タンパク質の発現が、ピキア宿主に、 - H A C 1 スプライシング型タンパク質をコードしている 1 つ以上の核酸；及び／又は - H A C 1 スプライシング型タンパク質をコードしている核酸の発現を制御している 1 つ以上の強力なプロモーターの導入によって増強される、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法又は請求項 5 記載のピキア宿主。10

【請求項 7】

少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドと、H A C 1 スプライシング型タンパク質が、同じ遺伝子構築物から発現される、請求項 6 記載の方法又はピキア宿主。

【請求項 8】

H A C 1 スプライシング型タンパク質をコードしている核酸が、少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸の下流の遺伝子構築物上に位置する、請求項 7 記載の方法又はピキア宿主。20

【請求項 9】

少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸の転写、及び H A C 1 スプライシング型タンパク質をコードしている核酸の転写が、同じプロモーターによって制御される、請求項 7 又は 8 のいずれかに記載の方法又はピキア宿主。

【請求項 10】

少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸の転写、及び H A C 1 スプライシング型タンパク質をコードしている核酸の転写が、異なるプロモーターによって制御される、請求項 7 又は 8 のいずれかに記載の方法又はピキア宿主。30

【請求項 11】

少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチド及び H A C 1 スプライシング型タンパク質が、異なる遺伝子構築物から発現される、請求項 6 記載の方法又はピキア宿主。

【請求項 12】

異なる遺伝子構築物からの、少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸の転写、及び H A C 1 スプライシング型タンパク質をコードしている核酸の転写が、同じである別々のプロモーターによって制御される、請求項 11 記載の方法又はピキア宿主。40

【請求項 13】

異なる遺伝子構築物からの、少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸の転写、及び H A C 1 スプライシング型タンパク質をコードしている核酸の転写が、異なる別々のプロモーターによって制御される、請求項 11 記載の方法又はピキア宿主。

【請求項 14】

少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか若しくはそれからなるポリペプチド及び／又は H A C 1 スプライシング型タンパク質が、染色体から発現される、請求項 6 ~ 13 のいずれかに記載の方法又はピキア宿主。

【請求項 15】

10

20

30

40

50

HAC1スプライシング型タンパク質の発現が、ピキア宿主の染色体への強力なプロモーターの導入によって増強される、請求項14記載の方法又はピキア宿主。

【請求項16】

強力なプロモーターによって制御されるHAC1スプライシング型タンパク質をコードしている1つ以上の核酸が、ピキア宿主の染色体に導入される、請求項14記載の方法又はピキア宿主。

【請求項17】

少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている1つ以上の核酸が、ピキア宿主の染色体に導入される、請求項14記載の方法又はピキア宿主。

10

【請求項18】

少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸のコピー数が1である、請求項1～17のいずれかに記載の方法又はピキア宿主。

【請求項19】

少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸のコピー数が2又はそれ以上である、請求項1～17のいずれかに記載の方法又はピキア宿主。

【請求項20】

ピキア宿主がピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) である、請求項1～19のいずれかに記載の方法又はピキア宿主。

20

【請求項21】

ピキア・パストリス株が、X33及びNRRLY-11430から選択される、請求項20記載の方法又はピキア宿主。

【請求項22】

少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしあつHAC1スプライシング型(配列番号14)をコードし、ここで、該少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインは、重鎖可変ドメイン又はその断片である、核酸。

30

【請求項23】

遺伝子構築物の形態である、請求項22記載の核酸。

【請求項24】

少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸と、HAC1スプライシング型(配列番号14)をコードしている核酸とを含み、ここで、該少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインは、重鎖可変ドメイン又はその断片である、遺伝子構築物。

40

【請求項25】

HAC1スプライシング型タンパク質をコードしている核酸が、少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸の下流に位置する、請求項24記載の遺伝子構築物。

【請求項26】

少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸の発現、及びHAC1スプライシング型タンパク質をコードしている核酸の発現が、同じプロモーターによって制御される、請求項24又は25のいずれかに記載の遺伝子構築物。

【請求項27】

少なくとも1つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなるポリペプチドをコードしている核酸の発現、及びHAC1スプライシング型タンパク質をコードしている核酸の発現が、異なるプロモーターによって制御される、請求項24又は25のいずれかに記載の遺伝子構築物。

50

【請求項 2 8】

請求項 2 4 ~ 2 7 のいずれかに記載の遺伝子構築物を含む、請求項 5 ~ 2 1 のいずれかに記載のピキア宿主。

【請求項 2 9】

1つ以上の追加の補助的タンパク質の発現が増強されている、請求項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 0】

追加の補助的タンパク質が、P D I 1、K a r 2 p、及びR P P 0 から選択される、請求項 2 9 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 1】

補助的タンパク質の数が 2 である、請求項 2 9 又は 3 0 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 2】

2つの補助的タンパク質が、以下の 2 つの補助的タンパク質の組合せ：

- P D I 1 (配列番号 5) 及びH A C 1 スプライシング型 (配列番号 1 4) ;
- K a r 2 p (配列番号 4) 及びH A C 1 スプライシング型 (配列番号 1 4) ; 並びに
- R P P 0 (配列番号 6) 及びH A C 1 スプライシング型 (配列番号 1 4)

から選択される、請求項 3 1 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 3】

補助的タンパク質の数が 3 である、請求項 2 9 又は 3 0 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 4】

3つの補助的タンパク質が、以下の 3 つの補助的タンパク質の組合せ：

- P D I 1 (配列番号 5)、R P P 0 (配列番号 6) 及びH A C 1 スプライシング型 (配列番号 1 4) ;
- K a r 2 p (配列番号 4)、R P P 0 (配列番号 6) 及びH A C 1 スプライシング型 (配列番号 1 4) ; 並びに
- P D I 1 (配列番号 5)、K a r 2 p (配列番号 4)、及びH A C 1 スプライシング型 (配列番号 1 4)

から選択される、請求項 3 3 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 5】

P D I 1 (配列番号 5)、K a r 2 p (配列番号 4)、R P P 0 (配列番号 6) 及びH A C 1 スプライシング型 (配列番号 1 4) の発現が増強される、請求項 2 9 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 6】

ポリペプチドが一価ポリペプチドである、請求項 1 ~ 3 5 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 7】

免疫グロブリン単一可変ドメインが、4つのフレームワーク領域 (それぞれ、F R 1 ~ F R 4) 及び 3 つの相補性決定領域 (それぞれ、C D R 1 ~ C D R 3) からなり、C D R 1 は配列番号 5 8 であり、C D R 2 は配列番号 6 0 であり、C D R 3 は配列番号 6 2 である、請求項 1 ~ 3 6 に記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 8】

免疫グロブリン単一可変ドメインが配列番号 5 6 である、請求項 1 ~ 3 7 に記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 3 9】

ポリペプチドが、場合により 1 つ以上のペプチドリンクを介して連結された、1 つ以上の他の残基又は結合単位をさらに含む、請求項 1 ~ 3 8 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 4 0】

10

20

30

40

50

前記の 1 つ以上の他の残基又は結合単位が、免疫グロブリン单一可変ドメインである、請求項 3 9 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 4 1】

ポリペプチドが多価構築物である、請求項 3 9 又は 4 0 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 4 2】

ポリペプチドが、二価、三価、又は四価ポリペプチドである、請求項 4 1 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 4 3】

前記の 1 つ以上の他の結合単位が、前記の 1 つ以上の結合単位を含まないポリペプチドと比較して、延長された半減期を有するポリペプチドを提供する、請求項 3 9 ~ 4 2 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。 10

【請求項 4 4】

延長された半減期を有するポリペプチドを提供する前記の 1 つ以上の他の結合単位が、血清アルブミン（例えばヒト血清アルブミン）又は血清免疫グロブリン（例えば IgG）に結合することのできる結合単位からなる群より選択される、請求項 4 3 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 4 5】

ポリペプチドが、血清アルブミンに結合する少なくとも 1 つの免疫グロブリン单一可変ドメインを含む、請求項 4 4 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。 20

【請求項 4 6】

ポリペプチドが C 末端伸長 X (n) をさらに含み、n は 1 ~ 5、例えば 1、2、3、4 又は 5 であり、X は天然アミノ酸であり、好ましくはシステインを全く含まない、請求項 1 ~ 4 5 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 4 7】

ポリペプチドが配列番号 5 5 を含むか又はそれからなる、請求項 1 ~ 4 6 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 4 8】

少なくとも 1 つの免疫グロブリン单一可変ドメインが、ドメイン抗体、單一ドメイン抗体、「dAb」、又は VHH、ヒト化 VHH、及びラクダ化重鎖可変ドメインから選択される免疫グロブリン单一可変ドメインから選択される、請求項 1 ~ 4 7 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。 30

【請求項 4 9】

少なくとも 1 つの免疫グロブリン单一可変ドメインが、2 つ以上のジスルフィド架橋を含む、請求項 4 8 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 5 0】

1 つ以上の結合単位が、ドメイン抗体、單一ドメイン抗体、「dAb」、又は VHH、ヒト化 VHH、及びラクダ化重鎖可変ドメインから選択される免疫グロブリン单一可変ドメイン選択される、請求項 3 9 ~ 4 9 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。 40

【請求項 5 1】

免疫グロブリン单一可変ドメインが、VHH、ヒト化 VHH、及びラクダ化重鎖可変ドメインから選択される、請求項 4 8 又は 5 0 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 5 2】

VHH が、VHH 1 型免疫グロブリン单一可変ドメインの群に属する、請求項 5 1 記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 5 3】

ポリペプチドが、標準的なピキア発現条件下でピキア宿主において発現させた場合に得られる収量が、ピキア宿主内の該ポリペプチドをコードしている核酸のコピー数と逆相関

10

20

30

40

50

を示す、ポリペプチドの群から選択される、請求項 1 ~ 5 2 のいずれかに記載の方法、核酸、遺伝子構築物、又はピキア宿主。

【請求項 5 4】

請求項 1 ~ 4、6 ~ 2 1、又は 2 9 ~ 5 3 の方法のいずれかによつて得ることのできる、少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインを含むか又はそれからなり、ここで、該少なくとも 1 つの免疫グロブリン単一可変ドメインは、重鎖可変ドメイン又はその断片である、ポリペプチド。

【請求項 5 5】

請求項 5 4 のポリペプチドを含む、医薬組成物。

10

20

30

40

50