

【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 29 年 12 月 7 日 (2017.12.7)

【公表番号】特表 2016-540826 (P2016-540826A)

【公表日】平成 28 年 12 月 28 日 (2016.12.28)

【年通号数】公開・登録公報 2016-070

【出願番号】特願 2016-552202 (P2016-552202)

【国際特許分類】

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 16/28 Z N A

C 0 7 K 16/46

A 6 1 K 39/395 C

A 6 1 K 39/395 L

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成 29 年 10 月 27 日 (2017.10.27)

【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】

式：

A b - (L - D)

の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、式中：

(a) A b は E F N A 4 に結合する抗体、またはその抗原結合断片であり；そして

(b) L - D はリンカー - 薬物部分であり、ここで L はリンカーであり、そして D は薬物である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 2】

A b が、

S E Q I D N O : 1 5、1 9、および 2 3 として示されている 3 個の C D R を含む重鎖可変領域、ならびに S E Q I D N O : 2 9、3 3、および 3 5 として示されている 3 個の C D R を含む軽鎖可変領域、または

S E Q I D N O : 4 1、4 5、および 4 9 として示されている 3 個の C D R を含む重鎖可変領域ならびに S E Q I D N O : 5 5、5 9、および 6 1 として示されている 3 個の C D R を含む軽鎖可変領域、

を含む、請求項 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 3】

A b が、

S E Q I D N O : 1 3 と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および S E Q I D N O : 2 7 と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、または

S E Q I D N O : 3 9 と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変

領域および S E Q I D N O : 5 3 と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、
を含む、請求項 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 4】

A b が、
S E Q I D N O : 1 3 として示されている重鎖可変領域および S E Q I D N O : 2 7 として示されている軽鎖可変領域、または
S E Q I D N O : 3 9 として示されている重鎖可変領域および S E Q I D N O : 5 3 として示されている軽鎖可変領域、
を含む、請求項 3 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 5】

A b が、
S E Q I D N O : 2 5 として示されている重鎖および S E Q I D N O : 3 7 として示されている軽鎖、または
S E Q I D N O : 5 1 として示されている重鎖および S E Q I D N O : 6 3 として示されている軽鎖、
を含む、請求項 4 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 6】

薬物が、カリケアマイシンまたはカリケアマイシンの誘導体である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 7】

薬物が、N - アセチル - - カリケアマイシンジメチルヒドラジド (C M) である、請求項 6 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 8】

リンカーが、4 - (4 ' アセチルフェノキシ) ブタン酸 (A c B u t) を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 9】

1 ~ 1 2 の D A R を有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 1 0】

式：

A b - (L - D)

の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、式中：

(a) A b は、

S E Q I D N O : 1 3 として示されている重鎖可変領域および S E Q I D N O : 2 7 として示されている軽鎖可変領域、または
S E Q I D N O : 3 9 として示されている重鎖可変領域および S E Q I D N O : 5 3 として示されている軽鎖可変領域、
を含む抗体、またはその抗原結合断片であり；そして

(b) L - D は、リンカー - 薬物部分であり、ここで L はリンカーであり、そして D は薬物である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 1 1】

式：

A b - (L - D)

の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、式中：

(a) A b は、

S E Q I D N O : 2 5 として示されている重鎖および S E Q I D N O : 3 7 として示されている軽鎖、または
S E Q I D N O : 5 1 として示されている重鎖および S E Q I D N O : 6 3 として示されている軽鎖、

を含む抗体、またはその抗原結合断片であり；そして

(b) L - D は、リンカー - 薬物部分であり、ここで L はリンカーであり、そして D は薬物であり、ここで該リンカーは 4 - (4 ' アセチルフェノキシ) ブタン酸 (A c B u t) であり、かつここで該薬物は N - アセチル - カリケアマイシンジメチルヒドラジド (C M) である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

【請求項 1 2】

複数の請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートおよび場合により医薬用キャリアーを含む組成物であって、該組成物が、1 ~ 1 2 の範囲内の平均 D A R を有する、上記組成物。

【請求項 1 3】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートを生成するためのプロセスであって、以下の工程：

- (a) L を D 部分に連結して L - D 部分を準備し；
- (b) L - D 部分を抗体にコンジュゲートさせ；そして
- (c) 抗体 - 薬物コンジュゲートを精製する；

を含む、上記プロセス。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートおよび薬学的に許容可能なキャリアーを含む、医薬組成物。

【請求項 1 5】

対象における E F N A 関連障害の処置のための医薬品の製造における、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートの使用。

【請求項 1 6】

E F N A 関連障害が過剰増殖障害である、請求項 1 5 に記載の使用。

【請求項 1 7】

過剰増殖障害が新生物性障害または血液悪性疾患である、請求項 1 6 に記載の使用。

【請求項 1 8】

新生物性障害が固形腫瘍を含む、請求項 1 7 に記載の使用。

【請求項 1 9】

新生物性障害が、乳癌、卵巣癌、結腸直腸癌、肝臓癌、または肺癌である、請求項 1 8 に記載の使用。

【請求項 2 0】

血液悪性疾患が白血病である、請求項 1 7 に記載の使用。

【請求項 2 1】

腫瘍細胞集団において腫瘍開始細胞を低減する方法であって、該方法が、腫瘍細胞集団を E F N A 4 抗体 - 薬物コンジュゲートと接触させることを含み、ここで該集団は、腫瘍開始細胞および腫瘍開始細胞以外の腫瘍細胞を含み；それにより、該腫瘍細胞集団中の腫瘍開始細胞の頻度が低減する、上記方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 3 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 3 7】

別途示されない限り、詳細な記載全体を通して用いられた際に、用語“約”は、用語“約”の後の値の + / - 1 % の値を意味する。

ある態様において、本発明は以下であってもよい。

[態様 1] 式：

A b - (L - D)

の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、式中：

(a) A b は E F N A 4 に結合する抗体、またはその抗原結合断片であり；そして

(b) L - D はリンカー - 薬物部分であり、ここで L はリンカーであり、そして D はカリケアマイシンである、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 2] 態様 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b がキメラ抗体、C D R 移植抗体、ヒト化抗体、または組み換えヒト抗体である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 3] 態様 1 または 2 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が内在化抗体および / または中和抗体である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 4] 態様 1 ~ 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、以下：

(a) S E Q I D N O : 1 3 として示されている重鎖可変領域および S E Q I D N O : 2 7 として示されている軽鎖可変領域；または

(b) S E Q I D N O : 3 9 として示されている重鎖可変領域および S E Q I D N O : 5 3 として示されている軽鎖可変領域；

を含む抗体と、ヒト E F N A 4 への結合に関して競合する、および / または同じエピトープに結合する、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 5] 態様 4 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、少なくとも 1 個の重鎖可変領域および少なくとも 1 個の軽鎖可変領域を含み、該少なくとも 1 個の重鎖可変領域が、S E Q I D N O : 1 5、1 9、および 2 3 として示されている 3 個の C D R を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 6] 態様 4 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、少なくとも 1 個の重鎖可変領域および少なくとも 1 個の軽鎖可変領域を含み、該少なくとも 1 個の軽鎖可変領域が、S E Q I D N O : 2 9、3 3、および 3 5 として示されている 3 個の C D R を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 7] 態様 4 ~ 6 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、以下：

(a) S E Q I D N O : 1 5、1 9、および 2 3 として示されている 3 個の C D R を含む重鎖可変領域；ならびに

(b) S E Q I D N O : 2 9、3 3、および 3 5 として示されている 3 個の C D R を含む軽鎖可変領域；

を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 8] 態様 4 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、S E Q I D N O : 1 3 と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および S E Q I D N O : 2 7 と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 9] 態様 8 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、S E Q I D N O : 1 3 として示されている重鎖可変領域および S E Q I D N O : 2 7 として示されている軽鎖可変領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 1 0] 態様 9 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、I g G 1 重鎖定常領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 1 1] 態様 1 0 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、S E Q I D N O : 2 5 として示されている重鎖を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 1 2] 態様 9 ~ 1 1 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、カップ軽鎖定常領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 1 3] 態様 1 2 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、S E Q I D N O : 3 7 として示されている軽鎖を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 1 4] 態様 9 ~ 1 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、S E Q I D N O : 2 5 として示されている重鎖および S E Q I D N O : 3 7 として示されている軽鎖を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 1 5] 態様 4 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 A b が、少なくとも

1 個の重鎖可変領域および少なくとも 1 個の軽鎖可変領域を含み、該少なくとも 1 個の重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 41、45、および 49 として示されている 3 個の CDR を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 16] 態様 4 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、少なくとも 1 個の重鎖可変領域および少なくとも 1 個の軽鎖可変領域を含み、該少なくとも 1 個の軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 55、59、および 61 として示されている 3 個の CDR を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 17] 態様 4 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、

(a) SEQ ID NO: 41、45、および 49 として示されている 3 個の CDR を含む重鎖可変領域；ならびに

(b) SEQ ID NO: 55、59、および 61 として示されている 3 個の CDR を含む軽鎖可変領域；

を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 18] 態様 5 または態様 15 ~ 17 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、SEQ ID NO: 39 に少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および SEQ ID NO: 53 に少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 19] 態様 18 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、SEQ ID NO: 39 として示されている重鎖可変領域および SEQ ID NO: 53 として示されている軽鎖可変領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 20] 態様 19 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、IgG1 重鎖定常領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 21] 態様 20 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、SEQ ID NO: 51 として示されている重鎖を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 22] 態様 19 ~ 21 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、カッパ軽鎖定常領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 23] 態様 22 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、SEQ ID NO: 63 として示されている軽鎖を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 24] 態様 19 ~ 23 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、SEQ ID NO: 51 として示されている重鎖および SEQ ID NO: 63 として示されている軽鎖を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 25] 態様 4 ~ 24 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、SEQ ID NO: 13 または 39 として示されている重鎖可変領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 26] 態様 4 ~ 25 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 Ab が、SEQ ID NO: 27 または 53 として示されている軽鎖可変領域を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 27] 態様 1 ~ 26 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該薬物が、カリケアマイシンの N - アセチル誘導体である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 28] 態様 27 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該薬物が、N - アセチル - - カリケアマイシンである、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 29] 態様 28 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該薬物が、N - アセチル - - カリケアマイシンジメチルヒドラジド (CM) である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 30] 態様 1 ~ 29 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該リンカーが、4 - (4 ' アセチルフェノキシ) ブタン酸 (AcBut) を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 31] 態様 1 ~ 30 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、1 ~ 12 の DAR を有する抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 32] 式：

A b - (L - D)

の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、式中：

(a) A b は、S E Q I D N O : 2 5 として示されている重鎖および S E Q I D N O : 3 7 として示されている軽鎖を含む抗体、またはその抗原結合断片であり；そして

(b) L - D は、リンカー - 薬物部分であり、ここで L はリンカーであり、そして D は薬物であり、ここで該リンカーは 4 - (4 ' アセチルフェノキシ) ブタン酸 (A c B u t) であり、かつここで該薬物は N - アセチル - カリケアマイシンジメチルヒドラジド (C M) である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 3 3] 式：

A b - (L - D)

の抗体 - 薬物コンジュゲートであって、式中：

(a) A b は、S E Q I D N O : 5 1 として示されている重鎖および S E Q I D N O : 6 3 として示されている軽鎖を含む抗体、またはその抗原結合断片であり；そして

(b) L - D は、リンカー - 薬物部分であり、ここで L はリンカーであり、そして D は薬物であり、ここで該リンカーは 4 - (4 ' アセチルフェノキシ) ブタン酸 (A c B u t) であり、かつここで該薬物は N - アセチル - カリケアマイシンジメチルヒドラジド (C M) である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 3 4] 複数の態様 1 ~ 3 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートおよび場合により医薬用キャリアーを含む組成物であって、該組成物が、1 ~ 1 2 の範囲内の平均 D A R を有する、組成物。

[態様 3 5] 態様 3 4 に記載の組成物であって、該組成物が、3 ~ 5 の範囲内の平均 D A R を有する、組成物。

[態様 3 6] 態様 3 5 に記載の組成物であって、該組成物が、3 ~ 4 の範囲内の平均 D A R を有する、組成物。

[態様 3 7] 態様 3 6 に記載の組成物であって、該組成物が、4 ~ 5 の範囲内の平均 D A R を有する、組成物。

[態様 3 8] 態様 3 4 ~ 3 7 のいずれか 1 に記載の組成物であって、該組成物が、約 4 の平均 D A R を有する、組成物。

[態様 3 9] 複数の態様 1 ~ 3 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートおよび場合により医薬用キャリアーを含む組成物であって、該組成物が、少なくとも 5 0 % の 3 ~ 5 の D A R を有する抗体 - 薬物コンジュゲートを有する、組成物。

[態様 4 0] 態様 3 9 に記載の組成物であって、該組成物が、少なくとも 6 0 % の 3 ~ 5 の D A R を有する抗体 - 薬物コンジュゲートを有する、組成物。

[態様 4 1] 態様 4 0 に記載の組成物であって、該組成物が、少なくとも 7 0 % の 3 ~ 5 の D A R を有する抗体 - 薬物コンジュゲートを有する、組成物。

[態様 4 2] 態様 4 1 に記載の組成物であって、該組成物が、少なくとも 7 5 % の 3 ~ 5 の D A R を有する抗体 - 薬物コンジュゲートを有する、組成物。

[態様 4 3] 態様 4 1 または 4 2 に記載の組成物であって、該組成物が、約 7 0 % ~ 8 0 % の 3 ~ 5 の D A R を有する抗体 - 薬物コンジュゲートを有する、組成物。

[態様 4 4] 態様 1 ~ 3 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートを生成するためのプロセスであって、以下の工程：

(a) 該リンカーを薬物部分に連結し；

(b) 該リンカー - 薬物部分を該抗体にコンジュゲートさせ；そして

(c) 該抗体 - 薬物コンジュゲートを精製する；

を含む、プロセス。

[態様 4 5] 態様 1 ~ 3 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートおよび薬学的に許容可能なキャリアーを含む、医薬組成物。

[態様 4 6] 態様 1 ~ 3 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートを含む療法上

有効量の組成物をそれを必要とする対象に投与することを含む、E F N A 関連障害を処置する方法。

[態様 4 7] 態様 4 6 に記載の方法であって、該 E F N A 関連障害が過剰増殖障害である方法。

[態様 4 8] 態様 4 7 に記載の方法であって、該過剰増殖障害が新生物性障害である方法。

[態様 4 9] 態様 4 8 に記載の方法であって、該新生物性障害が固形腫瘍を含む方法。

[態様 5 0] 態様 4 9 に記載の方法であって、該新生物性障害が、乳癌、卵巣癌、結腸直腸癌、肝臓癌、または肺癌である方法。

[態様 5 1] 態様 4 8 に記載の方法であって、該新生物性障害が血液悪性疾患を含む方法。

[態様 5 2] 態様 5 1 に記載の方法であって、該血液悪性疾患が白血病である方法。

[態様 5 3] 対象における E F N A 関連障害の処置のための医薬品の製造における、態様 1 ~ 3 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲートの使用。

[態様 5 4] 態様 5 3 に記載の使用であって、該 E F N A 関連障害が過剰増殖障害である使用。

[態様 5 5] 態様 5 4 に記載の使用であって、該過剰増殖障害が新生物性障害である使用。

[態様 5 6] 態様 5 5 に記載の使用であって、該新生物性障害が固形腫瘍を含む使用。

[態様 5 7] 態様 5 6 に記載の使用であって、該新生物性障害が、乳癌、卵巣癌、結腸直腸癌、肝臓癌、または肺癌である使用。

[態様 5 8] 態様 5 5 に記載の使用であって、該新生物性障害が血液悪性疾患を含む使用。

[態様 5 9] 態様 5 8 に記載の使用であって、該血液悪性疾患が白血病である使用。

[態様 6 0] 対象における E F N A 関連障害の処置における使用のための、態様 1 ~ 3 3 のいずれか 1 に記載の抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 6 1] 態様 6 0 に記載の使用のための抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該 E F N A 関連障害が過剰増殖障害である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 6 2] 態様 6 1 に記載の使用のための抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該過剰増殖障害が新生物性障害である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 6 3] 態様 6 2 に記載の使用のための抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該新生物性障害が固形腫瘍を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 6 4] 態様 6 3 に記載の使用のための抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該新生物性障害が、乳癌、卵巣癌、結腸直腸癌、肝臓癌、または肺癌である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 6 5] 態様 6 2 に記載の使用のための抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該新生物性障害が血液悪性疾患を含む、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 6 6] 態様 6 5 に記載の使用のための抗体 - 薬物コンジュゲートであって、該血液悪性疾患が白血病である、抗体 - 薬物コンジュゲート。

[態様 6 7] 腫瘍細胞集団において腫瘍開始細胞を低減する方法であって、該方法が、腫瘍細胞集団を E F N A 4 抗体 - 薬物コンジュゲートと接触させることを含み、ここで該集団は、腫瘍開始細胞および腫瘍開始細胞以外の腫瘍細胞を含み；それにより、該腫瘍細胞集団中の腫瘍開始細胞の頻度が低減する方法。

[態様 6 8] 態様 6 7 に記載の方法であって、該接触がインビボで実施される方法。

[態様 6 9] 態様 6 7 に記載の方法であって、該接触がインビトロで実施される方法。