

【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】令和3年10月28日(2021.10.28)

【公表番号】特表2020-533273(P2020-533273A)

【公表日】令和2年11月19日(2020.11.19)

【年通号数】公開・登録公報2020-047

【出願番号】特願2020-503686(P2020-503686)

【国際特許分類】

C 0 7 K	14/74	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/16	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 1 2 N	15/62	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	14/74	Z N A
C 0 7 K	19/00	
A 6 1 K	38/16	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/7088	
G 0 1 N	33/53	D
C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/62	Z

【手続補正書】

【提出日】令和3年9月1日(2021.9.1)

【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つのヘテロ二量体を含む、T細胞調節多量体ポリペプチド(TMMP)であって、

前記少なくとも1つのヘテロ二量体が、

(a)

(i) ペプチドエピトープであって、ペプチドは、約4アミノ酸～約20アミノ酸の長さを有する、ペプチドエピトープ；および

(ii) 2ミクログロブリン(2)ポリペプチドである第1のクラスI主要組織適合遺伝子複合体(MHC)ポリペプチド

を含む第1のポリペプチド、

(b)

クラスI MHC重鎖ポリペプチドである第2のクラスI MHCポリペプチドを含む第2のポリペプチド、ならびに

(c) 2つの免疫調節ポリペプチドを含み、前記第1のポリペプチドおよび/または第2のポリペプチドが、前記2つの免疫調節ポリペプチドを含み、前記2つの免疫調節ポリペプチドが、それぞれSEQ ID NO:15に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも85%のアミノ酸配列同一性を有しかつSEQ ID NO:15に記載のアミノ酸配列に対して1つまたは複数のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む変異インターロイキン2(IL-2)ポリペプチドを含み、前記変異IL-2ポリペプチドが、IL-2受容体(IL-2R)に結合し、バイオレイヤー干渉法(BLI)アッセイにおいて同一の条件下でアッセイした場合に、SEQ ID NO:15に記載のアミノ酸配列を含む対照IL-2ポリペプチドのIL-2Rポリペプチドに対する結合親和性と比較して、ヒト野生型IL-2Rに対する低下した結合親和性を示し、かつ前記ペプチドエピトープが、WT-1ポリペプチド、NY-ESO-1ポリペプチド、サバイビンポリペプチド、変異p53ポリペプチド、Rasポリペプチド、MAGE-A3ポリペプチド、MART1ポリペプチド、サイクリンB1ポリペプチド、N-mycがん原遺伝子(MYCN)ポリペプチド、Rasホモログ遺伝子ファミリーメンバーC(RhoC)ポリペプチド、チロシナーゼ関連タンパク質-2(TRP-2)、ETV6-AMLポリペプチド、および前立腺特異的抗原(PSA)ポリペプチドからなる群より選択されるポリペプチドのエピトープを提示し、任意で、前記TMMMPが、免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドまたは非Igスキヤフォールドを含む、前記T細胞調節多量体ポリペプチド(TMMMP)。**【請求項2】**(a1) 第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、(i) ペプチドエピトープ、(ii) 任意のリンカー、および(iii) 2 ポリペプチドを含み、かつ(b1) 第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、(i) 第1の低親和性IL-2変異ポリペプチド、(ii) 任意のリンカー、(iii) 第2の低親和性IL-2変異ポリペプチド、(iv) 任意のリンカー、(v) MHC重鎖ポリペプチド、(vi) 任意のリンカー、および(vii) 変異Ig Fcポリペプチドを含む、請求項1に記載のTMMMP。**【請求項3】**(a1) 第1のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、(i) ペプチドエピトープ、(ii) 任意のリンカー、および(iii) 2 ポリペプチドを含み、かつ(b1) 第2のポリペプチドが、N末端からC末端の順に、(i) MHC重鎖ポリペプチド、(ii) 任意のリンカー、(iii) 変異Ig Fcポリペプチド、(iv) 任意のリンカー、

(v) 第1の低親和性IL-2変異ポリペプチド、
(vi) 任意のリンカー、および
(vii) 第2の低親和性IL-2変異ポリペプチド
を含む、
請求項1に記載のTMMMP。

【請求項4】

MHCクラスI重鎖ポリペプチドが、HLA-A重鎖アミノ酸配列、任意で、SEQ ID NO:53に記載のHLA-A重鎖配列に対して少なくとも85%のアミノ酸配列を有するHLA-A重鎖アミノ酸配列を含む、請求項1~3のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項5】

少なくとも1つの低親和性IL-2変異ポリペプチドが、1~10のアミノ酸置換を有するSEQ ID NO:15のアミノ酸配列を含む、請求項1~4のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項6】

少なくとも1つの低親和性IL-2変異ポリペプチドが、X1がHis以外の任意のアミノ酸であり、かつX2がPhe以外の任意のアミノ酸であり、任意で、X1がAlaであるか、X2がAlaであるか、またはX1がAlaでありかつX2がAlaである、SEQ ID NO:25のアミノ酸配列を含む、請求項1~5のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項7】

少なくとも1つの低親和性IL-2変異ポリペプチドが、残基16および残基42にAlaを含む、請求項6に記載のTMMMP。

【請求項8】

2 ポリペプチド中のCys残基と、MHCクラスI重鎖ポリペプチド中のCys残基との間にジスルフィド結合を含む、請求項1~7のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項9】

2 ポリペプチド中の12位におけるCys残基と、MHCクラスI重鎖ポリペプチド中の236位におけるCys残基との間にジスルフィド結合を含む、請求項1~8のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項10】

第1のポリペプチドが、エピトープと2ポリペプチドとの間にCys含有リンカーを含み、TMMMPが、Cys含有リンカー中のCysとMHC重鎖中のCysとの間にジスルフィド結合を含む、請求項1~7のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項11】

Ig Fcポリペプチドが、図2-1~図2-4のA~Gのいずれか1つに記載されたヒトIgG1 Fcポリペプチドに対して少なくとも約85%のアミノ酸配列同一性を含む、請求項1~10のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項12】

Ig Fcポリペプチドが、ヒトIgG1 Fcポリペプチドの変異体、任意で、図2-1~図2-4のA~Gのいずれか1つに記載されたヒトIgG1 Fcポリペプチドに対して少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を含むヒトIgG1 Fcポリペプチドの変異体を含み、任意で、Ig Fcポリペプチドが図2-4のGのアミノ酸配列を含む、請求項1~11のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項13】

ペプチドエピトープが、WT-1ポリペプチドのエピトープを提示する、請求項1~11のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項14】

ペプチドエピトープが、NY-ESO-1ポリペプチドのエピトープを提示する、請求項1~11のいずれか一項に記載のTMMMP。

【請求項 15】

ペプチドエピトープが、サバイビンポリペプチドのエピトープを提示する、請求項1～11のいずれか一項に記載のT M M P。

【請求項 16】

請求項1～15のいずれか一項に記載の第1および第2のヘテロ二量体を含むT M M Pであって、第1および第2のヘテロ二量体が、同一でありかつ第1および第2のヘテロ二量体のIg Fcポリペプチド間の1つまたは複数のジスルフィド結合によって互いに共有結合している、前記T M M P。

【請求項 17】

請求項1～16のいずれか一項に記載のT M M Pを含む、薬学的組成物。

【請求項 18】

請求項1～16のいずれか一項に記載の第1および第2のポリペプチドをコードする又クレオチド配列を含む、核酸。

【請求項 19】

請求項18に記載の核酸を含む、発現ベクター。

【請求項 20】

請求項18に記載の核酸または請求項19に記載のベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項 21】

T細胞を、請求項1～16のいずれか一項に記載のT M M Pと接触させる段階を含む、インビトロでT細胞の活性を選択的に調節する方法。

【請求項 22】

個体における癌を治療する方法において使用するための、請求項1～16のいずれか一項に記載のT M M Pまたは請求項17に記載の薬学的組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0003

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0003】

概要

本開示は、関連共免疫調節ポリペプチドに対する低い結合親和性を示す免疫調節ポリペプチドを含むT細胞調節多量体ポリペプチド(T M M P)を提供する。T M M Pは、T細胞の活性を調節するのに、また個体における免疫応答を調節するのに有用である。

[本発明1001]

(a) 第1のポリペプチドおよび(b) 第2のポリペプチドを含む、T細胞調節多量体ポリペプチドであって、

(a) 第1のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、(i) エピトープおよび(ii) 第1の主要組織適合遺伝子複合体(M H C)ポリペプチドを含み、

(b) 第2のポリペプチドは、N末端からC末端の順に、(i) 第2のM H Cポリペプチドおよび(ii) 任意選択的に免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドまたは非Igスキャフォールドを含み、

前記多量体ポリペプチドは1つまたは複数の免疫調節ドメインを含み、前記1つまたは複数の免疫調節ドメインのうちの少なくとも1つは、

(A) 前記第1のポリペプチドのC末端にあるか、

(B) 前記第2のポリペプチドのN末端にあるか、

(C) 前記第2のポリペプチドのC末端にあるか、または、

(D) 前記第1のポリペプチドのC末端および前記第2のポリペプチドのN末端にあり、

前記1つまたは複数の免疫調節ドメインのうちの少なくとも1つは、関連共免疫調節ポリ

ペプチドに対する対応する野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、前記関連共免疫調節ポリペプチドに対する低い親和性を示す変異免疫調節ポリペプチドであり、

前記エピトープは、

(i) 前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドが第2の T 細胞に結合する親和性よりも少なくとも25%高い親和性で、前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドが第1の T 細胞に結合し、ここで、第1の T 細胞は、前記関連共免疫調節ポリペプチドと、前記エピトープに少なくとも 10^{-7} M の親和性で結合する T 細胞受容体 (TCR) とを、その表面上に発現し、ここで、第2の T 細胞は、前記関連共免疫調節ポリペプチドをその表面上に発現するが、前記エピトープに少なくとも 10^{-7} M の親和性で結合する TCR をその表面上に発現しない

ように、かつ / または、

(i i) 関連共免疫調節ポリペプチドに対する、野生型免疫調節ポリペプチドを含む対照 T 細胞調節多量体ポリペプチドの結合親和性と、前記関連共免疫調節ポリペプチドに対する、前記野生型免疫調節ポリペプチドの変異体を含む前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドの結合親和性の比率が、バイオレイヤー干渉法で測定して $1.5 : 1 \sim 10^6 : 1$ の範囲内である

ように、 T 細胞上の TCR に少なくとも 10^{-7} M の親和性で結合する、前記 T 細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1002]

(a) 前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドが、それが前記第2の T 細胞に結合する親和性よりも少なくとも50%、少なくとも2倍、少なくとも5倍、もしくは少なくとも10倍高い親和性で、前記第1の T 細胞に結合する、および / または、

(b) 前記変異免疫調節ポリペプチドが、約 10^{-4} M ~ 約 10^{-7} M 、約 10^{-4} M ~ 約 10^{-6} M 、約 10^{-4} M ~ 約 10^{-5} M の親和性で、前記共免疫調節ポリペプチドに結合する、および / または、

(c) 関連共免疫調節ポリペプチドに対する、野生型免疫調節ポリペプチドを含む対照 T 細胞調節多量体ポリペプチドの結合親和性と、前記関連共免疫調節ポリペプチドに対する、前記野生型免疫調節ポリペプチドの変異体を含む前記 T 細胞調節多量体ポリペプチドの結合親和性の比率が、バイオレイヤー干渉法で測定して少なくとも $10 : 1$ 、少なくとも $50 : 1$ 、少なくとも $10^2 : 1$ 、もしくは、少なくとも $10^3 : 1$ である、

本発明1001の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1003]

前記第2のポリペプチドが Ig Fc ポリペプチドを含み、任意選択的に、前記 Ig Fc ポリペプチド、任意選択的に、 Ig G1 Fc ポリペプチドが、 N297A 、 L234A 、 L235A 、 L234F 、 L235E 、および P331S から選択される1つまたは複数のアミノ酸置換を含む、本発明1001または本発明1002の T 細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1004]

前記第1のポリペプチドが、前記エピトープと前記第1の MHC ポリペプチドとの間にペプチドリンカーを含む、および / または、前記第1のポリペプチドが、前記変異免疫調節ポリペプチドと前記第2の MHC ポリペプチドとの間にペプチドリンカーを含む、本発明1001 ~ 1003のいずれかの T 細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1005]

前記変異免疫調節ポリペプチドの2つ以上のコピーを含む、本発明1001 ~ 1004のいずれかの T 細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1006]

前記野生型免疫調節ポリペプチドが、 IL-2 、 4-1BBL 、 PD-L1 、 CD80 、 CD86 、 ICOS-L 、 OX-40L 、 FasL 、 JAG1 、 TGF 、 CD70 、および ICAM からなる群から選択される、本発明1001 ~ 1005のいずれかの T 細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1007]

(a) 前記第1のMHCポリペプチドが2-ミクログロプリンポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドがMHCクラスI重鎖ポリペプチドである、または、

(b) 前記第1のMHCポリペプチドがMHCクラスII鎖ポリペプチドであり、前記第2のMHCポリペプチドがMHCクラスII鎖ポリペプチドである、
本発明1001～1006のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1008]

多量体ポリペプチドがFcポリペプチドを含み、前記IgFcポリペプチドが、IgG1Fcポリペプチド、IgG2Fcポリペプチド、IgG3Fcポリペプチド、IgG4Fcポリペプチド、IgAFcポリペプチド、またはIgMFcポリペプチドである、本発明1001～1007のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1009]

(a) 前記第1のポリペプチドと前記第2のポリペプチドが非共有結合している、または
、
(b) 前記第1のポリペプチドと前記第2のポリペプチドが互いに共有結合しており、任意選択的に、前記共有結合はジスルフィド結合を介している、
本発明1001～1008のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1010]

前記エピトープががんエピトープである、本発明1001～1009のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1011]

前記第1のポリペプチドと前記第2のポリペプチドの一方がIgFcポリペプチドを含み、前記IgFcポリペプチドには薬物がコンジュゲートしている、本発明1001～1010のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1012]

結合親和性がバイオレイヤー干渉法で測定される、本発明1001～1011のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチド。

[本発明1013]

(A) 第1のヘテロ二量体および(B) 第2のヘテロ二量体を含む、多量体T細胞調節ポリペプチドであって、

(A) 第1のヘテロ二量体は、(a) 第1のポリペプチドおよび(b) 第2のポリペプチドを含み、

(a) 第1のポリペプチドは、(i) ペプチドエピトープおよび(ii) 第1の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)ポリペプチドを含み、

(b) 第2のポリペプチドは、(i) 第2のMHCポリペプチドを含み、

前記第1のヘテロ二量体は、1つまたは複数の免疫調節ポリペプチドを含み、

(B) 第2のヘテロ二量体は、(a) 第1のポリペプチドおよび(b) 第2のポリペプチドを含み、

(a) 第1のポリペプチドは、(i) ペプチドエピトープおよび(ii) 第1のMHCポリペプチドを含み、

(b) 第2のポリペプチドは、(i) 第2のMHCポリペプチドを含み、

前記第2のヘテロ二量体は、1つまたは複数の免疫調節ポリペプチドを含み、

前記第1のヘテロ二量体と第2のヘテロ二量体は互いに共有結合している、

前記多量体T細胞調節ポリペプチド。

[本発明1014]

前記第1のヘテロ二量体の前記免疫調節ポリペプチドと前記第2のヘテロ二量体の前記免疫調節ポリペプチドの両方が、IL-2、4-1BBL、PD-L1、CD80、CD86、ICOS-L、OX-40L、FasL、JAG1、TGF、CD70、およびICAMからなる群から選択される、本発明1013の多量体T細胞調節ポリペプチド。

[本発明1015]

本発明1001～1014のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチドの前記第1および前記第2

のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、1種または複数種の核酸。

[本発明1016]

(a 1) 本発明1001～1014のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチドと、

(b 1) 薬学的に許容される賦形剤と

を含む、または、

(a 2) 本発明1015の1種または複数種の核酸と、

(b 2) 薬学的に許容される賦形剤と

を含む、

組成物。

[本発明1017]

本発明1001～1014のいずれかのT細胞調節多量体ポリペプチドの有効量を個体に投与する段階を含む、個体における免疫応答を調節するための方法であって、

前記投与する段階は、エピトープ特異的T細胞応答およびエピトープ非特異的T細胞応答を誘導し、

前記エピトープ特異的T細胞応答と前記エピトープ非特異的T細胞応答の比率が少なくとも2:1である、

前記方法。

[本発明1018]

標的T細胞および非標的T細胞を含むT細胞の混合集団を本発明1001～1014のいずれかの多量体ポリペプチドと接触させる段階を含む、共刺激ポリペプチドを標的T細胞へと選択的に送達するための方法であって、

前記標的T細胞は、前記多量体ポリペプチド内に存在するエピトープに特異的であり、

前記接触させる段階は、前記多量体ポリペプチド内に存在する前記共刺激ポリペプチドを前記標的T細胞へと送達する、

前記方法。

[本発明1019]

個体から得たT細胞の混合集団において、目的のエピトープに結合する標的T細胞の存在を検出するための方法であって、

(a) T細胞の前記混合集団を本発明1001～1014のいずれかの多量体ポリペプチドとインビトロで接触させる段階であって、前記多量体ポリペプチドは前記目的のエピトープを含む、段階と、

(b) 前記接触させる段階に応答したT細胞の活性化および/または増殖を検出する段階であって、活性化および/または増殖T細胞は前記標的T細胞の存在を示す、段階と、を含む、前記方法。

[本発明1020]

関連共免疫調節ポリペプチドに対する対応する親野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、前記関連共免疫調節ポリペプチドに対する低い親和性を示す1つまたは複数の変異免疫調節ポリペプチドを含むT細胞調節多量体ポリペプチドを得るための方法であって、

前記方法は、複数のメンバーを含むT細胞調節多量体ポリペプチドのライブラリから、前記関連共免疫調節ポリペプチドに対する低い親和性を示すメンバーを選択する段階を含み、

前記複数のメンバーは、(a) 第1のポリペプチドおよび(b) 第2のポリペプチドを含み、

(a) 第1のポリペプチドは、(i) エピトープおよび(ii) 第1の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)ポリペプチドを含み、

(b) 第2のポリペプチドは、(i) 第2のMHCポリペプチドおよび(ii) 任意選択的に免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドまたは非Igスキャフォールドを含み、

前記ライブラリの前記メンバーは、前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または、前記第1のポリペプチドと前記第2のポリペプチドの両方の内部に存在する複数の

変異免疫調節ポリペプチドを含む、
前記方法。

[本発明1021]

関連共免疫調節ポリペプチドに対する対応する親野生型免疫調節ポリペプチドの親和性と比較して、前記関連共免疫調節ポリペプチドに対する低い親和性を示す1つまたは複数の変異免疫調節ポリペプチドを含むT細胞調節多量体ポリペプチドを得るための方法であって、

(A) 複数のメンバーを含むT細胞調節多量体ポリペプチドのライブラリを提供する段階であって、

前記複数のメンバーは、(a)第1のポリペプチドおよび(b)第2のポリペプチドを含み、

(a)第1のポリペプチドは、(i)エピトープおよび(ii)第1の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)ポリペプチドを含み、

(b)第2のポリペプチドは、(i)第2のMHCポリペプチドおよび(ii)任意選択的に免疫グロブリン(Ig)Fcポリペプチドまたは非Igスキャフォールドを含み、

前記ライブラリの前記メンバーは、前記第1のポリペプチド、前記第2のポリペプチド、または、前記第1のポリペプチドと前記第2のポリペプチドの両方の内部に存在する複数の変異免疫調節ポリペプチドを含む、

段階、および

(B) 前記関連共免疫調節ポリペプチドに対する低い親和性を示すメンバーを前記ライブラリから選択する段階
を含む、前記方法。