

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-516962

(P2024-516962A)

(43)公表日 令和6年4月18日(2024.4.18)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 B 0 6 4
C 0 7 K 16/24 (2006.01)	C 0 7 K 16/24	Z N A 4 B 0 6 5
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z 4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全28頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-563876(P2023-563876)	(71)出願人	508098350
(86)(22)出願日	令和4年4月19日(2022.4.19)		メドイミュン・リミテッド
(85)翻訳文提出日	令和5年10月17日(2023.10.17)		MedImmune Limited
(86)国際出願番号	PCT/EP2022/060236		英国シービー・ゼロエイエイ、ケンブリッジ、フランス・クリック・アベニュー1、ケンブリッジ・バイオメディカル・キャンパス
(87)国際公開番号	WO2022/223514		1 Francis Crick Avenue, Cambridge Biomedical Campus, Cambridge CB2 0AA, UNITED KINGDOM
(87)国際公開日	令和4年10月27日(2022.10.27)		
(31)優先権主張番号	21169183.7	(74)代理人	100106518
(32)優先日	令和3年4月19日(2021.4.19)		弁理士 松谷 道子
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	(74)代理人	100138911
(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

(54)【発明の名称】 安定性が改善された抗 T S L P F a b

(57)【要約】

本開示は、安定性が改善された抗 T S L P F a b、当該 F a b をコードする核酸、当該核酸を含む宿主細胞及びベクター、ならびに T S L P 関連状態の治療に当該 F a b を使用する方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む F a b。

【請求項 2】

配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を有する重鎖と、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖とを含む F a b。

【請求項 3】

配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖とを含む F a b。

10

【請求項 4】

前記 F a b が I g G 1 F a b である、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の F a b。

【請求項 5】

前記 F a b が、4 5 で少なくとも 2 週間安定している、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の F a b。

【請求項 6】

前記 F a b が、0 . 8 m g / m l の濃度における 1 x P B S 中で安定している、請求項 5 に記載の F a b。

【請求項 7】

前記 F a b が、1 x P B S 中 4 5 で 2 週間インキュベートした後に 1 0 % 未満の単量体損失を示し、単量体が H P - S E C により定量される、先行請求項のいずれかに記載の F a b。

20

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の F a b を含む医薬組成物。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の F a b をコードする核酸。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 11】

請求項 9 に記載の核酸または請求項 10 に記載のベクターを含む宿主細胞。

30

【請求項 12】

請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の F a b を生成する方法であって、請求項 7 に記載の宿主細胞を培養することと、前記 F a b を発現させることと、前記 F a b を精製することとを含む、前記方法。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の方法から得ることができる F a b。

【請求項 14】

治療に使用するための、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の F a b。

【請求項 15】

T S L P 関連状態の治療に使用するための、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の F a b。

40

【請求項 16】

前記 T S L P 関連状態が喘息である、請求項 15 に記載の使用のための F a b。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、安定性が改善された抗 T S L P F a b、当該 F a b をコードする核酸、当該核酸を含む宿主細胞及びベクター、ならびに疾患の治療に当該 F a b を使用する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

50

胸腺間質性リンパ球新生因子 (TSLP) は、IL-7Ra サブユニット及び TSLP-R (一般的な γ 受容体様鎖に類似するユニークな構成要素) からなるヘテロ二量体受容体を通じてシグナルを伝達するサイトカインである。(Pandey et al., Nat. Immunol. 2000, 1(1): 59-64)。TSLP は、胸腺、肺、皮膚、腸、及び扁桃内の上皮細胞、ならびに気道平滑筋細胞、肺線維芽細胞、及び間質細胞により発現される (Edwards, 2008, Drug news & perspectives 21, 312-316; He and Geha, 2010, Annals of the New York Academy of Sciences 1183, 13-24; Reche et al., 2001, Journal of immunology 167, 336-343)。

10

【0003】

これらの細胞は、炎症性刺激に応答して TSLP を産生し、TSLP は、複数の自然免疫細胞 (樹状細胞 (Soumelis et al., 2002, Nature immunology 3, 673-680)、単球 (Reche et al., 2001, Journal of immunology 167, 336-343)、及びマスト細胞 (Allakhverdi et al., 2007, The Journal of Experimental Medicine 204, 253-258) を含む) に対するその活性を通じてアレルギー炎症応答を駆動する。TSLP-R 及び IL-7Ra の発現がともに最も高いことが知られている細胞集団は、骨髄性樹状細胞である (Reche et al., 2001, Journal of immunology 167, 336-343)。

20

【0004】

TSLP は、ナイーブ T 細胞の増殖を促進し、それらが高レベルの IL-4、IL-5、IL-13 を発現する Th2 細胞に分化することを推進することができる (Omori and Ziegler, 2007, Journal of immunology 178, 1396-1404)。喘息性肺上皮細胞及び慢性アトピー性皮膚炎病変では高レベルの TSLP 発現が見出されており、このことから TSLP のアレルギー性炎症における役割が示唆される (Ziegler and Artis, 2010, Nature immunology 11, 289-293)。さらに最近のエビデンスにより、TSLP は、Th17 細胞の分化及び Th17 駆動型炎症プロセスと関連付けられている (Hartgring et al., 2011, Arthritis and rheumatism 63, 1878-1887; Tanaka et al., 2009, Clinical and experimental allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology 39, 89-100; Wu et al., 2014, Journal of molecular and cellular cardiology 76, 33-45)。慢性アレルギー性 (アトピー性) 喘息がしばしば Th2 型炎症によって特徴付けられるのに対し、非アレルギー性喘息性炎症は主に、Th1 及び Th17 混在サイトカイン環境を伴った好中球性である。喘息における慢性炎症の結果としては、気管支過剰反応性 (BHR)、粘液過剰産生、気道壁再形成、及び気道狭窄が挙げられる (Lambrecht and Hammad, 2014, Nature immunology 16, 45-56)。TSLP は、アレルギー性喘息応答の開始及び維持/増強に関与することが示されている (Wang et al., 2006, Immunity 24, 827-838)。より最近では、TSLP シグナル伝達は、局所抗原チャレンジに対する記憶 T 細胞の想起応答に必要とされることも分かっている (Wang et al., 2015, The Journal of allergy and clinical immunology 135, 781-791 e783)。

30

40

【0005】

テゼベルマブは、TSLP に結合して TSLP 受容体複合体との相互作用を防止するヒト免疫グロブリン G2 (IgG2) モノクローナル抗体 (mAb) である。軽度アトピー

50

性喘息患者における概念実証試験では、テゼベルマブが、吸入アレルゲンチャレンジ後の早期及び後期の喘息応答を阻害し、Th2炎症のバイオマーカーを抑制することが実証された。重度の制御されない喘息を有する成人及び青年の患者におけるテゼベルマブの評価試験（NCT03347279）が最近終了し、年率換算喘息増悪率（AERR）の低減〔時間枠：ベースラインから第52週〕という主要評価項目を達成した。

【0006】

CSJ117は、ヒト胸腺間質性リンパ球新生因子（TSLP）に対する強力な中和抗体フラグメントであり、硬質カプセル中のPulmoSol（商標）操作粉末として乾燥粉末吸入器による肺への送達用に製剤化されている（Gauvrealet al ERS 2020 56: Suppl. 64, 3690）。

10

【0007】

そのため、喘息などの炎症性疾患の治療でTSLPを標的とすることは臨床的に検証済みである。大半の喘息患者が吸入によるセルフメディケーションに慣れていることを考慮すれば、吸入によるTSLPアンタゴニストの投与は興味深い。

【0008】

本開示は、この台頭しつつある医薬分類において、既存の治療選択肢（特に吸入によるもの）を基礎に進めることを目的とする。

【発明の概要】

【0009】

驚くべきことに、本開示は、テゼベルマブのCH1ドメインに複数の変異を起こし、この分子をFabに変換することにより、加速安定性条件下（1×PBS中、45℃で2週間）で凝集が低減することを見出した。1×PBS中の加速安定性試験は、in vivo血清安定性のおおよその近似として使用されることがある。

20

【0010】

治療用に投与される抗体の多くは、14日（2週間）を超える半減期を有する。Fabは、mAbよりもサイズが小さく、エアロゾル化した後の肺における体内分布が改善されることを考慮すると、吸入送達用により好ましい可能性がある。吸入により投与されるとはいえ、血清安定性は、肺に投与されるタンパク質ベースアンタゴニストにとって依然意義のある因子である。そのため、例示的なFabの加速安定性の改善は、TSLP関連状態の治療に使用する際に有利であり得る。

30

【0011】

したがって、1つの態様において、本開示は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含むFabを提供する。

【0012】

別の態様において、本開示は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を有する重鎖と、配列番号2に記載のアミノ酸配列を有する軽鎖とを含むFabを提供する。

【0013】

別の態様において、本開示は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなる重鎖と、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖とを含むFabを提供する。

【0014】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載のFabをコードする核酸を提供する。

40

【0015】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載の核酸を含むベクターを提供する。

【0016】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載の核酸またはベクターを含む宿主細胞を提供する。

【0017】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載のFabの治療有効量を対象に投与することを含む治療方法を提供する。

【0018】

50

別の態様において、本開示は、治療に使用するための本明細書に記載の F a b を提供する。

【 0 0 1 9 】

別の態様において、本開示は、治療における本明細書に記載の F a b の使用を提供する。

【 0 0 2 0 】

別の態様において、本開示は、治療に使用する医薬の製造における本明細書に記載の F a b の使用を提供する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 1 】

【 図 1 A 】 1 × P B S 中約 1 m g / m l のテゼベルマブの 4 における 2 週間加速安定性アッセイを示している。プロットは、割り当てた時間の間各温度でインキュベートした後のテゼベルマブの H P - S E C トレースを示している。

【 図 1 B 】 1 × P B S 中約 1 m g / m l のテゼベルマブの 4 5 における 2 週間加速安定性アッセイを示している。プロットは、割り当てた時間の間各温度でインキュベートした後のテゼベルマブの H P - S E C トレースを示している。

【 図 1 C 】 テゼベルマブの単量体損失 % 及び凝集体形成 % を、 I g G 1 アイソタイプ対照 N I P 2 2 8 の結果とともに示している。

【 図 2 A 】 1 × P B S 中約 0 . 8 m g / m l の F a b 1 の 4 における 2 週間加速安定性アッセイを示している。プロットは、割り当てた時間の間各温度でインキュベートした後の F a b 1 の H P - S E C トレースを示している。

【 図 2 B 】 1 × P B S 中約 0 . 8 m g / m l の F a b 1 の 4 5 における 2 週間加速安定性アッセイを示している。プロットは、割り当てた時間の間各温度でインキュベートした後の F a b 1 の H P - S E C トレースを示している。

【 図 2 C 】 F a b 1 の単量体損失 % 及び凝集体形成 % を、 F a b アイソタイプ対照 R 3 4 7 の結果とともに示している。

【 図 3 】 K i n E x A による測定における F a b 1 のヒト T S L P に対する結合を示している。

【 図 4 】 K i n E x A による測定における F a b 1 のカニクイザル T S L P に対する結合を示している。

【 図 5 】 H T R F アッセイを用いた F a b 1 のヒト T S L P に対する競合的結合を示している。

【 図 6 】 F a b 1 が、 T S L P でチャレンジされた P B M C からの C C L 1 7 放出を阻害することを示している。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 2 】

定義

「 1 つの 」 (「 a 」 または 「 a n 」) 実体という用語は、 1 つ以上のその実体を指すことに留意されたい。例えば、「 1 つの抗 T S L P F a b 」 は、 1 つ以上の抗 T S L P F a b を表すものと理解する。

【 0 0 2 3 】

「 抗体 」 は最も広い意味で使用され、様々な抗体構造を包含し、このような構造には、限定されるものではないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体 (例えば、二重特異性抗体) 、 及び抗体フラグメント (ただし、所望の抗原結合活性を示す場合に限る) が含まれる。

【 0 0 2 4 】

「 抗体フラグメント 」 は抗体の抗原結合部分を含み、これには、とりわけ、 F a b 、 F a b ' 、 F (a b ') 2 、 F v 、ドメイン抗体 (d A b) 、相補性決定領域 (C D R) フラグメント、 C D R 移植抗体、単鎖抗体 (s c F v) 、単鎖抗体フラグメント、キメラ抗体、ダイアボディ、テトラボディ、ミニボディ、線状抗体、キレート化組換え抗体、トリボ

10

20

30

40

50

ディもしくはバイボディ、イントラボディ、ナノボディ、小型モジュラー免疫医薬（S M I P）、抗原結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質、シングルドメイン抗体（ラクダ化抗体を含む）、V H H含有抗体、またはこれらのバリエーションもしくは誘導体、及びポリペプチドに特異的抗原結合を付与するのに十分な免疫グロブリンの少なくとも一部（例えば、1、2、3、4、5、もしくは6個のC D R配列）を含むポリペプチド（ただし、抗体が所望の生物学的活性を保持する場合に限る）が含まれる。

【0025】

「F a b」とは、V H - C H 1及びV L - C L対合を含む抗体フラグメントを指す。この用語は、典型的に高い配列変動性に関連する配列領域以外でF a b内にノンカノニカルな配列バリエーション（例えば、アミノ酸置換、欠失、または挿入）を含むF a bを包含する。例えば、F a bバリエーションとしては、V HもしくはV Lフレームワーク領域またはC H 1もしくはC Lドメインにおけるノンカノニカルなアミノ酸または配列の変化を含むF a bが挙げられる。このような変化は、ノンカノニカルなシステインまたは他の誘導体化可能なアミノ酸の存在を含むことがあり、これらは、当該F a bバリエーションを異種部分と結合体化させるために使用することができる。他のこのような変化としては、ノンカノニカルなポリペプチドリンカー（2つのドメイン間を共有結合的に架橋するポリペプチド配列）の存在が挙げられる。例えば、F a bバリエーションは、F a bを単一のポリペプチド鎖として発現させることができるようにC H 1ドメインをV LドメインにまたはC LドメインをV Hドメインに共有結合させるリンカーポリペプチドを含むことができる。

10

【0026】

「宿主細胞」とは、組換えD N A技法を用いて構築され少なくとも1つの異種遺伝子をコードするベクターを保有する細胞を指す。組換え宿主から抗T S L P F a bを単離するプロセスの説明において、「細胞」及び「細胞培養物」という用語は、別段の明確な指示がない限り、抗T S L P F a bの供給源を示すために互換的に使用される。言い換えれば、「細胞」からのポリペプチドの回収とは、スピンドウンした全細胞からの回収か、または培地及び浮遊細胞の両方を含む細胞培養物からの回収のいずれかを意味し得る。

20

【0027】

「単離された」とは、自然界に見出されない形態のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物を指す。単離されたポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または粗製物には、もはや天然に見出される形態ではない程度まで精製されたものが含まれる。いくつかの態様において、単離された抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は実質的に純粋である。

30

【0028】

「医薬組成物」とは、有効成分（例えば、本明細書で開示する抗T S L P F a b）の生物学的活性を有効にする形態をとり、当該組成物を投与する対象にとって許容できないほど毒性である追加の構成要素を含まない調製物を指す。このような組成物は無菌であり得る。

【0029】

「ポリヌクレオチド」または「核酸」とは、本明細書では互換的に使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、これにはD N A及びR N Aが含まれる。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾されたヌクレオチド、もしくは塩基、及び/またはこれらのアナログ、またはD N AもしくはR N Aポリメラーゼによってポリマーに組み込まれ得る任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、修飾されたヌクレオチド（例えば、メチル化ヌクレオチド及びそのアナログ）を含むことができる。前述の説明は、本明細書で言及される全てのポリヌクレオチド（R N A及びD N Aを含む）に適用される。

40

【0030】

「組換え」ポリペプチドまたはタンパク質とは、組換えD N A技術によって生成されるポリペプチドまたはタンパク質を指す。操作宿主細胞内で発現した組換え的に生成されたポリペプチド及びタンパク質は、本発明の目的において単離されているとみなされ、任意

50

の好適な技法によって分離、分画、または部分的もしくは実質的に精製されたネイティブまたは組換えポリペプチドであるとみなされる。本明細書で開示するポリペプチドは、当該技術分野で知られている方法を用いて組換え的に生成することができる。代替的に、本明細書で開示するタンパク質及びペプチドは、化学的に合成することができる。

【0031】

「対象」または「個体」または「動物」または「患者」または「哺乳類」とは、対象が「健康な対象」と定義される場合を除き、診断、予後、または治療が所望される任意の対象、特に哺乳類対象を意味する。哺乳類対象としては、ヒト、飼育動物、家畜、例えば、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、ウシなどが挙げられる。好ましくは、対象はヒトである。

10

【0032】

「治療する」または「治療」とは、治療的処置及び予防的または防止的手段の両方を指し、その目的は、望ましくない生理学的変化または障害を防止したり遅らせたり（軽減したり）することである。有益なまたは望ましい臨床的結果としては、以下に限定されるものではないが、症状の軽減、疾患程度の減弱、疾患状態の安定化（すなわち、悪化していないこと）、疾患進行の遅延または緩徐化、疾患状態の改善または緩和、及び軽快（部分的または全体的）が挙げられ、検出可能なものも検出不可可能なものも含まれる。「治療」は、治療を受けていない場合に予想される生存期間に比べて生存期間を延長することも意味する場合がある。治療が必要な者としては、状態もしくは障害を既に有する者、ならびに状態もしくは障害を有する傾向にある者、または状態もしくは障害を防止する必要がある者が挙げられる。

20

【0033】

「治療有効量」とは、対象または哺乳類の疾患または障害を「治療」するのに有効な、本明細書で開示する抗 T S L P F a b または他の薬物の量を指す。

【0034】

「T S L P」とは、胸腺間質性リンパ球新生因子を指す。T S L P は、I L - 7 R a サブユニット及び T S L P - R（一般的な γ 受容体様鎖に類似するユニークな構成要素）からなるヘテロ二量体受容体を通じてシグナルを伝達するサイトカインである。（P a n d e y e t a l . , N a t . I m m u n o l . 2 0 0 0 , 1 (1) : 5 9 - 6 4）。T S L P は、胸腺、肺、皮膚、腸、及び扁桃内の上皮細胞、ならびに気道平滑筋細胞、肺線維芽細胞、及び間質細胞により発現される（E d w a r d s , 2 0 0 8 , D r u g n e w s & p e r s p e c t i v e s 2 1 , 3 1 2 - 3 1 6 ; H e a n d G e h a , 2 0 1 0 , A n n a l s o f t h e N e w Y o r k A c a d e m y o f S c i e n c e s 1 1 8 3 , 1 3 - 2 4 ; R e c h e e t a l . , 2 0 0 1 , J o u r n a l o f i m m u n o l o g y 1 6 7 , 3 3 6 - 3 4 3）。これらの細胞は、炎症性刺激に応答して T S L P を産生し、T S L P は、複数の自然免疫細胞（樹状細胞（S o u m e l i s e t a l , 2 0 0 2 , N a t u r e i m m u n o l o g y 3 , 6 7 3 - 6 8 0）、単球（R e c h e e t a l . , 2 0 0 1 , J o u r n a l o f i m m u n o l o g y 1 6 7 , 3 3 6 - 3 4 3）、及びマスト細胞（A l l a k h v e r d i e t a l . , 2 0 0 7 , T h e J o u r n a l o f E x p e r i m e n t a l M e d i c i n e 2 0 4 , 2 5 3 - 2 5 8）を含む）に対するその活性を通じてアレルギー炎症応答を駆動する。T S L P - R 及び I L - 7 R a の発現がともに最も高いことが知られている細胞集団は、骨髄性樹状細胞である（R e c h e e t a l , 2 0 0 1 , J o u r n a l o f i m m u n o l o g y 1 6 7 , 3 3 6 - 3 4 3）。

30

40

【0035】

T S L P は、ナイーブ T 細胞の増殖を促進し、それらが高レベルの I L - 4、I L - 5、I L - 1 3 を発現する T h 2 細胞に分化するのを推進することができる（O m o r i a n d Z i e g l e r , 2 0 0 7 , J o u r n a l o f i m m u n o l o g y 1 7 8 , 1 3 9 6 - 1 4 0 4）。喘息性肺上皮細胞及び慢性アトピー性皮膚炎病変では高レベルの T S L P 発現が見出されており、このことから T S L P のアレルギー性炎症にお

50

る役割が示唆される (Ziegler and Artis, 2010, Nature immunology 11, 289 - 293)。さらに最近のエビデンスにより、TSLPは、Th17細胞の分化及びTh17駆動型炎症プロセスと関連付けられている (Hartgring et al, 2011, Arthritis and rheumatism 63, 1878 - 1887; Tanaka et al, 2009, Clinical and experimental allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology 39, 89 - 100; Wu et al, 2014, Journal of molecular and cellular cardiology 76, 33 - 45)。慢性アレルギー性 (アトピー性) 喘息がしばしばTh2型炎症によって特徴付けられるのに対し、非アレルギー性喘息性炎症は主に、Th1及びTh17混在サイトカイン環境を伴った好中球性である。喘息における慢性炎症の結果としては、気管支過剰反応性 (BHR)、粘液過剰産生、気道壁再形成、及び気道狭窄が挙げられる (Lambrecht and Hammad, 2014, Nature immunology 16, 45 - 56)。TSLPは、アレルギー性喘息応答の開始及び維持/増強に関与することが示されている (Wang et al., 2006, Immunity 24, 827 - 838)。より最近では、TSLPシグナル伝達は、局所抗原チャレンジに対する記憶T細胞の想起応答に必要とされることも分かっている (Wang et al., 2015, The Journal of allergy and clinical immunology 135, 781 - 791 e783)。

10

20

30

40

50

【0036】

「ベクター」とは、宿主細胞内に1つ以上の目的遺伝子 (複数可) または配列 (複数可) を送達可能であり、またいくつかの態様では発現可能であるコンストラクトを意味する。ベクターの例としては、限定されるものではないが、ウイルスベクター、裸のDNAまたはRNA発現ベクター、プラスミド、コスミドまたはファージベクター、カチオン性縮合剤と会合したDNAまたはRNA発現ベクター、リポソームに封入されたDNAまたはRNA発現ベクター、及び生産者細胞などのある特定の真核細胞が挙げられる。

【0037】**抗TSLP Fab**

本開示は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含むFabを提供する。

【0038】

別の態様において、本開示は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含むFabを提供する。

【0039】

別の態様において、本開示は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含むFabを提供する。

【0040】

実施例では、これらの配列特性を有するFabが、同様のVH及びVLDメイン配列を有する全長抗体と比較して、加速安定性試験条件下で安定性が改善されたことが示されている。安定性が改善された例示的なFabを、本明細書ではFab1と称する。

【0041】

いくつかの場合において、本開示は、Fab1と同等の安定性を有するFabを提供する。いくつかの場合において、この同等の安定性とは、加速安定性試験条件下での同等の安定性である。いくつかの場合において、加速安定性試験条件は、1xPBS、45、2週間である。いくつかの場合において、加速試験条件下でのFabの濃度は約0.8mg/mlである。

【0042】

いくつかの場合において、Fabは、配列番号1のアミノ酸配列に対し少なくとも80%、85%、90%、または95%の配列同一性を有する重鎖を含む。いくつかの場合に

において、F a b は、配列番号 1 のアミノ酸配列に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する重鎖を含む。いくつかの場合において、F a b は、F a b 1 と同等の安定性を含む。

【 0 0 4 3 】

いくつかの場合において、F a b は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % の配列同一性を有する軽鎖を含む。いくつかの場合において、F a b は配列番号 2 のアミノ酸配列に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する軽鎖を含む。いくつかの場合において、F a b は、F a b 1 と同等の安定性を含む。

【 0 0 4 4 】

いくつかの場合において、F a b は、配列番号 1 のアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % の配列同一性を有する重鎖と、配列番号 2 のアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % の配列同一性を有する軽鎖とを含む。いくつかの場合において、F a b は、F a b 1 と同等の安定性を含む。

10

【 0 0 4 5 】

いくつかの場合において、F a b は、配列番号 1 のアミノ酸配列に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する重鎖と、配列番号 2 のアミノ酸配列に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する軽鎖とを含む。いくつかの場合において、F a b は、F a b 1 と同等の安定性を含む。

【 0 0 4 6 】

いくつかの場合において、本開示は、配列番号 1 の重鎖を含む抗原結合フラグメントを提供する。

20

【 0 0 4 7 】

いくつかの場合において、本開示は、配列番号 1 のアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % の配列同一性を有する重鎖を含む抗原結合フラグメントを提供する。いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、配列番号 1 のアミノ酸配列に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する重鎖を含む。いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、F a b 1 と同等の安定性を含む。

【 0 0 4 8 】

いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、配列番号 2 のアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % の配列同一性を有する軽鎖を含む。いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、配列番号 2 のアミノ酸配列に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する軽鎖を含む。いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、F a b 1 と同等の安定性を含む。

30

【 0 0 4 9 】

いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、配列番号 1 のアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % の配列同一性を有する重鎖と、配列番号 2 のアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、または 9 5 % の配列同一性を有する軽鎖とを含む。いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、F a b 1 と同等の安定性を含む。

【 0 0 5 0 】

いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、配列番号 1 のアミノ酸配列に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する重鎖と、配列番号 2 のアミノ酸配列に対し少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する軽鎖とを含む。いくつかの場合において、抗原結合フラグメントは、F a b 1 と同等の安定性を含む。

40

【 0 0 5 1 】

ヌクレオチド

本開示は、本明細書で開示する F a b 及び抗原結合フラグメントをコードする核酸（または「ポリヌクレオチド」）も提供する。

【 0 0 5 2 】

本明細書で開示するポリヌクレオチドはさらに、例えば、本明細書に記載のコードポリペプチドの分泌を指示するシグナルペプチドをコードする、さらなる核酸を含むことがで

50

きる。

【0053】

ポリヌクレオチドは、当技術分野で知られている任意の方法によって生成または製造することができる。例えば、Fabのヌクレオチド配列が既知である場合、抗TSLP Fabをコードするポリヌクレオチドは、(例えば、Kutmeier et al., Bio Techniques 17:242(1994)に記載のように)化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから構築することができ、簡潔に説明すると、これは、抗TSLP Fabをコードする配列の一部を含む重複オリゴヌクレオチドの合成と、これらのオリゴヌクレオチドのアニリング及びライゲーションと、ライゲーションされたオリゴヌクレオチドのPCRによる増幅とを含む。

10

【0054】

代替的に、抗TSLP Fabをコードするポリヌクレオチドは、好適な供給源の核酸から生成してもよい。Fabをコードする核酸を含むクローンを利用できないがFabの配列が既知である場合、Fabをコードする核酸は、化学的に合成するか、または好適な供給源から得ることができ、例えば、配列の3'及び5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを用いたPCR増幅により、または目的の特定の配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを用いたクローニングにより行われる。PCRによって生成された増幅核酸は、次に、当技術分野で周知されている任意の方法を用いて、複製可能なクローニングベクターにクローニングすることができる。

20

【0055】

Fabのヌクレオチド配列及び対応するアミノ酸配列が決定したら、そのヌクレオチド配列は、当技術分野で周知されているヌクレオチド配列の操作のための方法、例えば、組換えDNA技法、部位特異的変異誘発、PCRなど(例えば、Sambrook et al.(1990)Molecular Cloning, A Laboratory Manual(2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.)及びAusubel et al., eds.(1998)Current Protocols in Molecular Biology(John Wiley & Sons, NY)に記載の技法を参照(これらはいずれも参照により全体として本明細書に援用される))を用いて操作して、例えば、アミノ酸置換、欠失、及び/または挿入を作出するために、異なるアミノ酸配列を有するFabを生成することができる。

30

【0056】

Fabをコードするポリヌクレオチドは、任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドから構成されてもよく、これらは修飾されていないRNAまたはDNAであっても、修飾されたRNAまたはDNAであってもよい。例えば、抗TSLP Fabをコードするポリヌクレオチドは、一本鎖及び二本鎖DNA、一本鎖領域及び二本鎖領域の混合であるDNA、一本鎖及び二本鎖RNA、一本鎖領域及び二本鎖領域の混合であるRNA、一本鎖、もしくはより典型的には二本鎖、または一本鎖領域及び二本鎖領域の混合であり得るDNA及びRNAを含むハイブリッド分子で構成されてもよい。さらに、当該Fabをコードするポリヌクレオチドは、RNAもしくはDNA、またはRNA及びDNAの両方を含む三本鎖領域から構成されてもよい。また、抗TSLP Fabをコードするポリヌクレオチドは、安定性や他の理由のために修飾されている1つ以上の修飾された塩基またはDNAもしくはRNA骨格を含んでもよい。「修飾された」塩基としては、例えば、トリチル化塩基及びイノシンなどの例外的な塩基が挙げられる。様々な修飾がDNA及びRNAに行われ得るため、「ポリヌクレオチド」は、化学的、酵素的、または代謝的に修飾された形態を包含する。

40

【0057】

免疫グロブリンに由来するポリペプチド(例えば、免疫グロブリン重鎖部分または軽鎖部分)の非天然バリエーションをコードする単離されたポリヌクレオチドは、1つ以上のアミノ酸置換、付加、または欠失がコードタンパク質に導入されるように、1つ以上のヌクレ

50

オチド置換、付加、または欠失を免疫グロブリンのヌクレオチド配列に導入することにより、作出することができる。変異は、部位特異的変異誘発及びPCR媒介性変異誘発などの標準的な技法によって導入することができる。好ましくは、保存的アミノ酸置換は1つ以上の非必須アミノ酸残基で行われる。

【0058】

製造方法

抗TSLP Fabまたは抗原結合フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、典型的には、所望の量のFab生成のために使用することができる宿主細胞に導入するために、発現ベクターに挿入される。そのため、本明細書で定義するFabをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクター、及び当該発現ベクターを含む宿主細胞は、本明細書に

10

【0059】

Fabまたは抗原結合フラグメントの組換え発現には、Fabをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターの構築が必要となる。本開示のFabをコードするポリヌクレオチドが得られたら、当技術分野で周知されている技法を用いて組換えDNA技術により、Fab生成のためのベクターを生成することができる。

【0060】

FabをコードするDNA配列は、周知の方法に従って逆転写酵素とDNAポリメラーゼを用いて同時または別々のいずれでも作製することができる。PCRは、コンセンサス定常領域プライマーにより、または公開されたDNA及びアミノ酸配列に基づいたより特異的なプライマーにより、開始することができる。PCRは、抗体可変軽鎖及び重鎖をコードするDNAクローンを単離するために使用することもできる。この場合、ライブラリーは、コンセンサスプライマーまたはより大きな相同プローブ（例えば、マウス定常領域プローブ）により、スクリーニングすることができる。

20

【0061】

したがって、Fabコードヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを発現させることによってタンパク質を調製するための方法が、本明細書に記載される。当業者に周知されている方法を使用して、抗TSLP Fabコード配列と、適切な転写及び翻訳制御シグナルとを含む発現ベクターを構築することができる。このような方法としては、例えば、*in vitro*組換えDNA技法、合成技法、及び*in vivo*遺伝子組換えが挙げられる。したがって、本開示は、プロモーターに作用可能に結合した本開示のFabをコードするヌクレオチド配列を含む複製可能なベクターを提供する。

30

【0062】

本開示の目的において、多数の発現ベクターシステムを用いることができる。例えば、ある種類のベクターは、動物ウイルス（例えば、ウシ乳頭腫ウイルス、ポリオーマウイルス、アデノウイルス、ワクシニアウイルス、パキユロウイルス、レトロウイルス（RSV、MMTV、もしくはMOMLV）、またはSV40ウイルス）に由来するDNAエレメントを利用する。他のベクターは、内部リボソーム結合部位を伴ったポリシストロニックシステムの使用を伴う。さらに、DNAを染色体に組み込んだ細胞は、形質移入宿主細胞の選択を可能にする1つ以上のマーカーを導入することにより、選択することができる。マーカーは、栄養要求性宿主に対する原栄養性、殺生物剤耐性（例えば、抗生物質）、または銅などの重金属に対する耐性を提供することができる。選択マーカー遺伝子は、発現させるDNA配列に直接結合することも、共形質転換によって同じ細胞に導入することもできる。mRNAの最適な合成には、さらなるエレメントも必要になり得る。このようなエレメントとしては、シグナル配列、スプライスシグナル、ならびに転写プロモーター、エンハンサー、及び終結シグナルを挙げることができる。

40

【0063】

真核細胞において発現を誘発可能な任意の発現ベクターを本開示で使用することができる。好適なベクターの例としては、限定されるものではないが、プラスミドpcDNA3、pHCMV/Zeo、pCR3.1、pEF1/His、pIND/GS、pRc/

50

HCMV2、pSV40/Zeo2、pTRACER-HCMV、pUB6/V5-His、pVAX1、及びpZeoSV2 (Invitrogen (San Diego, Calif.)) から入手可能)、及びプラスミドpCI (Promega (Madison, Wis.)) から入手可能) が挙げられる。一般的に、発現細胞のために多数の形質転換細胞をスクリーニングする。

【0064】

より一般的には、FabをコードするベクターまたはDNA配列が調製されたら、発現ベクターを適切な宿主細胞に導入することができる。宿主細胞へのプラスミドの導入は、当業者に周知されている様々な技法によって達成することができる。このような技法としては、限定されるものではないが、形質移入 (電気泳動及びエレクトロポレーションを含む)、プロトプラスト融合、リン酸カルシウム沈殿、エンベロープDNAとの細胞融合、マイクロインジェクション、及びインタクトウイルスによる感染が挙げられる。Ridgway (1988) "Mammalian Expression Vectors" (Vectors, ed. Rodriguez and Denhardt (Butterworths, Boston, Mass.) Chapter 24.2, pp. 470-472) を参照。典型的には、宿主へのプラスミド導入はエレクトロポレーションにより行われる。発現コンストラクトを有する宿主細胞を、抗TSLP Fabの生成に適した条件下で成長させ、タンパク質合成をアッセイする。例示的なアッセイ技法としては、酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)、ラジオイムノアッセイ (RIA)、または蛍光活性化セルソーター解析 (FACS)、免疫組織化学などが挙げられる。

10

20

【0065】

発現ベクターを従来技法によって宿主細胞に形質移入し、従来技法によって形質移入細胞を培養して、本明細書に記載の方法で使用するための抗TSLP Fabを生成する。したがって、本開示は、異種プロモーターに作用可能に結合している本開示のFab、例えば、重鎖もしくは軽鎖、または可変重鎖もしくは可変軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞を含む。

【0066】

1つの場合において、当該宿主細胞を含む培養基が提供される。1つの場合において、当該培養基を含む発酵容器が提供される。

【0067】

いくつかの場合において、培養基及び発酵容器は、本明細書で定義するFabを生成する方法を行うのに適している。

30

【0068】

様々な宿主発現ベクターシステムを利用して、本明細書に記載の抗TSLP Fabを発現させることができる。このような宿主発現システムは、目的コード配列を生成し、続いて精製することができるビヒクルに相当するが、さらに、適切なヌクレオチドコード配列によって形質転換または形質移入したときに本開示の分子を*in situ*で発現することができる細胞にも相当する。これらの宿主発現システムとしては、以下に限定されるものではないが、コード配列を含む組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNA、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された微生物、例えば、細菌 (例えば、*E. coli*、*B. subtilis*) ; コード配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母 (例えば、*Saccharomyces*、*Pichia*) ; コード配列を含む組換えウイルス発現ベクター (例えば、バキュロウイルス) に感染させた昆虫細胞システム ; コード配列を含む、組換えウイルス発現ベクター (例えば、カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) 及びタバコモザイクウイルス (TMV)) に感染させた、または組換えプラスミド発現ベクター (例えば、Tiプラスミド) で形質転換された、植物細胞システム ; あるいは、哺乳類細胞のゲノム (例えば、メタロチオネインプロモーター) または哺乳類ウイルス (例えば、アデノウイルス後期プロモーター ; ワクシニアウイルス 7.5 Kプロモーター) に由来するプロモーターを含む組換え発現コンストラクトを有する哺乳類細胞システム (例えば、COS、CHO、BLK、293、3T3細胞) が挙げ

40

50

られる。

【0069】

*Escherichia coli*などの細菌細胞、より好ましくは真核細胞がFabの発現に使用される。例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）などの哺乳類細胞と、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要中間初期遺伝子プロモーターエレメントなどのベクターとの組合せは、抗体における有効な発現システムである（Foecking et al., Gene 45:101(1986); Cockett et al., Bio/Technology 8:2(1990)）。

【0070】

タンパク質発現に使用される宿主細胞株は、哺乳類起源であることが多い。当業者は、発現すべき所望の遺伝子産物に最も適した特定の宿主細胞株を優先的に決定する能力を有すると考えられる。例示的な宿主細胞株としては、限定されるものではないが、CHO（チャイニーズハムスター卵巣）、DG44及びDUXB13（チャイニーズハムスター卵巣株、DHFRマイナス）、HELA（ヒト子宮頸癌）、CVI（サル腎臓株）、COS（SV40 T抗原を有するCVIの派生物）、VERO、BHK（ベビーハムスター腎臓）、MDCK、293、WI38、R1610（チャイニーズハムスター線維芽細胞）、BALBC/3T3（マウス線維芽細胞）、HAK（ハムスター腎臓株）、SP2/0（マウス骨髄腫）、P3.times.63-Ag3.653（マウス骨髄腫）、BFALclBPT（ウシ内皮細胞）、RAJI（ヒトリンパ球）、ならびに293（ヒト腎臓）が挙げられる。典型的には、宿主細胞株は、商業的サービス、American Tissue Culture Collection、または公開文献から利用可能である。

【0071】

加えて、宿主細胞株は、挿入された配列の発現を調節するもの、または遺伝子産物を所望される特定の様式で修飾しプロセッシングするものを選択することができる。タンパク質産物のこのような修飾（例えば、グリコシル化）及びプロセッシング（例えば、切断）は、タンパク質の機能のために重要であり得る。異なる宿主細胞は、タンパク質及び遺伝子産物の翻訳後プロセッシング及び修飾のための、特徴的かつ特定の機構を有する。適切な細胞株または宿主システムは、発現した外部タンパク質の正しい修飾及びプロセッシングを確実にするように選択することができる。この目的に向けて、適正な一次転写物のプロセッシング、グリコシル化、及び遺伝子産物のリン酸化のための細胞機構を有する真核生物宿主細胞を使用することができる。

【0072】

長期においては、組換えタンパク質の高収率の生成、安定した発現が好ましい。例えば、抗TSLP Fabを安定して発現する細胞株を操作することができる。ウイルスの複製起点を含む発現ベクターを使用するのではなく、適切な発現調節エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアダニル化部位など）により調節されたDNA及び選択マーカーを用いて、宿主細胞を形質転換させることができる。外部DNAの導入後、操作された細胞は、濃縮培地で1～2日間成長させることができ、次に選択的培地に切り替える。組換えプラスミドにおける選択マーカーは、選択に対する耐性を付与し、細胞が安定してプラスミドを染色体に統合し、成長して、細胞株にクローニングさせ増やすことができる増殖巣を形成することができるようにする。この方法は、抗TSLP Fabを安定して発現する細胞株の作製に有利に使用することができる。

【0073】

限定されるものではないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Wigler et al., Cell 13:223(1977)）、ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Szybalska and Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202(1992)）、及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Lowy et al., Cell 22:817(1980)）を含む多数の選択システムを使用することができ、これらの遺伝子を

10

20

30

40

50

それぞれ tk⁻、hgprt⁻、aprt⁻ 細胞で用いることができる。また、代謝拮抗物質耐性を以下の遺伝子に対する選択の基盤として使用することができる：メトトレキサートへの耐性を付与する dhfr (Wigler et al., Natl. Acad. Sci. USA 77:357 (1980); O'Hare et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1521 (1981)); ミコフェノール酸への耐性を付与する gpt (Mulligan and Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2012 (1981)); アミノグリコシド G-418 への耐性を付与する neo (Clinical Pharmacy 12:488-505; Wu and Wu, Biotherapy 3:87-95 (1991)); Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 52:573-596 (1993); Mulligan, Science 260:926-932 (1993); 及び Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217 (1993); TIB TECH 13(5):155-215 (May, 1993); 及びハイグロマイシンへの耐性を付与する hygromycin (Santerre et al., Gene 30:141 (1984))。使用され得る組換え DNA 技術の技術分野で一般的に知られている方法は、Ausubel et al. (1993) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, NY); Kriegler (1990) "Gene Transfer and Expression" in A Laboratory Manual (Stockton Press, NY); Dracoliet al. (eds) (1994) Current Protocols in Human Genetics (John Wiley & Sons, NY) Chapters 12 and 13; Colberre-Garapin et al. (1981) J. Mol. Biol. 150:1 に記載されており、これらは参照により全体として本明細書に援用される。

10

20

30

40

50

【0074】

Fab の発現レベルは、ベクター増幅によって増加させることができる (概説については、Bebbington and Hentschel (1987) "The Use of Vectors Based on Gene Amplification for the Expression of Cloned Genes in Mammalian Cells in DNA Cloning" (Academic Press, NY) Vol. 3 を参照)。抗 TSLP Fab を発現するベクターシステムのマーカが増幅可能である場合、宿主細胞の培養下で存在する阻害剤のレベルを増加させると、マーカ遺伝子のコピー数が増加する。増幅領域は抗 TSLP Fab 遺伝子に関連するため、抗 TSLP Fab の産生も増加する (Crouse et al., Mol. Cell Biol. 3:251 (1983))。

【0075】

In vitro 生成は、大量の所望のポリペプチドを得るためのスケールアップを可能にする。組織培養条件下での哺乳類細胞培養の技法は当技術分野で知られており、これには (例えば、エアリフトリアクター及び連続攪拌リアクターでの) 均質浮遊培養、または (例えば、中空ファイバー、マイクロカプセル、アガロースマイクロビーズ、もしくはセラミックカートリッジでの) 固定化もしくは捕捉細胞培養が含まれる。必要及び/または所望に応じて、ポリペプチドの溶液は、通例のクロマトグラフィー法 (例えば、ゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィー、DEAE-セルロースにおけるクロマトグラフィー、または (免疫) アフィニティークロマトグラフィー) により、例えば、合成ヒンジ領域ポリペプチドの優先的生合成後、または本明細書に記載の HIC クロマトグラフィーステップの前または後に、精製することができる。

【0076】

本開示の抗 TSLP Fab をコードする遺伝子は、非哺乳類細胞 (例えば、昆虫、細菌、酵母、または植物細胞) で発現させることもできる。核酸を容易に取り込む細菌とし

ては、腸内細菌（例えば、*Escherichia coli*または*Salmonella*）、*Bacillaceae*（例えば、*Bacillus subtilis*）、*Pneumococcus*、*Streptococcus*、及び*Haemophilus influenzae*のメンバーが挙げられる。さらに、細菌で発現させると、典型的には、異種ポリペプチドが封入体の一部となることが理解されよう。異種ポリペプチドは、単離し、精製し、機能的分子に構築しなければならない。四価形態の抗体が所望される場合、サブユニットは自己集合して四価抗体となる（WO 02 / 096948 A2）。

【0077】

細菌システムでは、発現させる抗TSLP Fabについて意図された使用に応じて、複数の発現ベクターを有利に選択することができる。例えば、Fabの医薬組成物の生成のためにこのようなタンパク質を大量に産生しようとする場合、容易に精製される融合タンパク質産物が高レベルに発現するように方向付けるベクターが望ましいと考えられる。このようなベクターとしては、限定されるものではないが、*E. coli*発現ベクターpUR278（Rutherford et al., *EMBO J.* 2: 1791 (1983)）（コード配列は、融合タンパク質が生成されるようにベクター内にlacZコード領域とインフレームで個別にライゲーションされ得る）、pINベクター（Inouye and Inouye, *Nucleic Acids Res.* 13: 3101-3109 (1985)；Van Heeke and Schuster, *J. Biol. Chem.* 244: 5503-5509 (1989)）などが挙げられる。また、pGEXベクターも、グルタチオンS-トランスフェラーゼ（GST）との融合タンパク質として外来ポリペプチドを発現するために使用することができる。概して、このような融合タンパク質は可溶性であり、溶解した細胞からの精製は、マトリックスグルタチオン-アガロースビーズに吸着及び結合させ、次に遊離グルタチオンの存在下で溶離させることにより、容易に行うことができる。pGEXベクターは、トロンピンまたは第Xa因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計され、これにより、クローニングされた標的遺伝子産物をGST部分から放出させることができる。

【0078】

原核生物に加えて真核微生物も使用することができる。*Saccharomyces cerevisiae*（すなわち一般的なパン酵母）が真核微生物の中で最も一般的に使用されているが、他の多数の株（例えば、*Pichia pastoris*）も一般的に利用可能である。

【0079】

*Saccharomyces*での発現については、例えば、プラスミドYRp7（Stinginchcomb et al., *Nature* 282: 39 (1979)；Kingsman et al., *Gene* 7: 141 (1979)；Tschemper et al., *Gene* 10: 151 (1980)）が一般的に使用されている。このプラスミドには既にTRP1遺伝子が含まれ、この遺伝子は、トリプトファンにおいて成長する能力が欠如した酵母の変異株、例えば、ATCC No. 44076またはPEP4-1の選択マーカーをもたらす（Jones, *Genetics* 85: 12 (1977)）。酵母宿主細胞ゲノムの特徴としてのtrp1病変が存在すると、トリプトファンの非存在下での成長による形質転換を検出するための有効な環境がもたらされる。

【0080】

昆虫システムでは、典型的には、*Autographa californica*核多角体病ウイルス（AcNPV）が、外部遺伝子を発現させるためのベクターとして使用される。このウイルスは、*Spodoptera frugiperda*細胞内で成長する。Fabコード配列は、ウイルスの非必須領域（例えばポリヘドリン遺伝子）に個別にクローニングし、AcNPVプロモーター（例えばポリヘドリンプロモーター）の制御下に置くことができる。

【0081】

本開示のFabを組換え発現させたら、これを、当技術分野で知られている免疫グロブ

10

20

30

40

50

リン分子を精製する任意の方法により、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、特にプロテイン A の後の特異的抗原に対する親和性、及びサイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、溶解度の差によって、またはタンパク質精製における他の任意の標準的技法によって精製することができる。代替的に、本開示の抗体の親和性を高めるための好ましい方法が、米国特許出願公開第 2 0 0 2 0 1 2 3 0 5 7 A 1 号で開示されている。

【 0 0 8 2 】

治療の方法

本開示はまた、治療の方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に記載の抗 T S L P F a b または医薬組成物の治療有効量を投与することを含む、方法を提供する。10
いくつかの場合において、この方法は、T S L P 関連状態の治療のために行われる。

【 0 0 8 3 】

また、本開示は、治療に使用するための本明細書に記載の抗 T S L P F a b または医薬組成物も提供する。いくつかの場合において、療法は、T S L P 関連状態の治療である。

【 0 0 8 4 】

本開示は、疾患の治療に使用するための医薬の製造における抗 T S L P F a b または医薬組成物の使用も提供する。いくつかの場合において、この疾患は T S L P 関連状態である。

【 0 0 8 5 】

本開示は、療法における抗 T S L P F a b または医薬組成物の使用も提供する。いくつかの場合において、療法は、T S L P 関連状態の治療である。20

【 0 0 8 6 】

いくつかの場合において、T S L P 関連状態は T S L P 関連炎症状態である。いくつかの場合において、T S L P 関連炎症状態は、喘息、敗血症、敗血症性ショック、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、アレルギー性鼻副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎、好酸球性食道炎、関節リウマチ、慢性閉塞性肺疾患（C O P D）、喘息、C O P D オーバーラップ症候群（A C O S）、慢性気管支炎、肺気腫、鼻茸を伴うもしくは伴わない慢性鼻副鼻腔炎、血管炎、G v H D、ぶどう膜炎、慢性特発性蕁麻疹、副鼻腔炎、または睪炎から選択される。30

【 0 0 8 7 】

いくつかの場合において、T S L P 関連炎症状態は喘息である。

【 0 0 8 8 】

喘息は、気道の複雑で不均質な炎症性疾患であり、可変で反復性の症状と、可逆的な気流閉塞と、気管支痙攣とを特徴とする。

【 0 0 8 9 】

喘息の症状としては、喘鳴、咳、胸部圧迫感、及び息切れを挙げることができる。症状は、アレルゲンまたは刺激物への曝露によって引き起こされ得る。喘息は、アレルゲンによって症状が誘発されるか（アトピー性）誘発されないか（非アトピー性）に基づき、アトピー性（外因性）及び非アトピー性（内因性）に分類することができる。急性の喘息の増悪は、一般的には「喘息発作」と称される。喘息発作中に起こり得るさらなる徴候としては、呼吸補助筋（頸部の胸鎖乳突筋及び斜角筋）の使用が挙げられ、奇脈（吸気時に弱く呼気時に強くなる脈拍）及び胸部の過膨張が認められることがある。青色の皮膚及び爪が酸素の欠如により生じることがある。これらの正の治療応答に加えて、抗 T S L P F a b による治療を受ける対象は、疾患に関連するこれらの症状のうちの 1 つ以上において有益な効果または改善を経験し得る。40

【 0 0 9 0 】

臨床応答は、スクリーニング技法（例えば、磁気共鳴画像法（M R I）スキャン、X 線画像診断、コンピューター断層撮影（C T）スキャン、フローサイトメトリーまたは蛍光活性化セルソーター（F A C S）解析、組織学、肉眼病理所見、及び血液化学（限定され50

るものではないが、E L I S A、R I A、クロマトグラフィーなどによって検出可能な変化を含む))を用いて評価することができる。

【0091】

本明細書で開示するF a bは、炎症性疾患に対する任意の既知の療法と組み合わせて使用することができる、このような療法には、炎症性疾患(例えば、喘息またはC O P D)の治療に有用であることが知られている、または使用されてきたもしくは現在使用されている任意の薬剤または薬剤の組合せが含まれる。本明細書に記載のF a bと組み合わせて投与することができる例示的な活性薬剤としては、限定されるものではないが、吸入コルチコステロイド(I C S)、気管支拡張剤(長時間作用性ベータアゴニスト(L A B A)、長時間作用性抗ムスカリンアゴニスト(L A M A)、短時間作用性ベータアゴニスト(S A B A)、及びムスカリン性 2アゴニスト(M A B A)を含む)、抗ヒスタミン剤、抗ロイコトリエン薬、P D E - 4阻害剤、ヤヌスキナーゼ阻害剤、ならびにホスホイノシチド3 - キナーゼ阻害剤が挙げられる。

10

【0092】

「組合せ」という用語は、1つの投与単位形態における固定された組合せ、あるいは抗T S L P F a b及び組合せパートナー(例えば、別の薬物(「治療剤」もしくは「助剤」とも称される))が、同時に独立して、または時間間隔内で別々に(特に、このような時間間隔が、組合せパートナーが協力的な効果(例えば、相乗効果)を示すことを可能にする場合)投与され得る組合せ投与のいずれかを指す。単一の構成要素は、キットにパッケージ化されても、別々であってもよい。構成要素(例えば、粉末または液体)の一方または両方を、投与前に所望の用量に再構成または希釈することができる。本明細書で利用する場合、「共投与」または「組合せ投与」などの用語は、選択された組合せパートナーを、それを必要とする単一の対象(例えば、患者)に投与することの包含を意味し、薬剤が必ずしも同じ投与経路により、または同時に投与されるとは限らない治療レジメンを含むことが意図されている。本明細書で使用する場合、「医薬の組合せ」という用語は、複数の治療剤の混合または組合せの結果生じる生成物を意味し、治療剤の固定された及び固定されていない組合せのいずれも含む。「固定された組合せ」という用語は、治療剤(例えば、抗T S L P F a b)及び組合せパートナーの両方が、単一の実体または投与量の形態で患者に同時に投与されることを意味する。「固定されていない組合せ」という用語は、治療剤(例えば、抗T S L P F a b)及び組合せパートナーの両方が、同時に、同時発生的に、または特定の時間制限なしで順次に、別々の実体として患者に投与されることを意味し、このような投与により、患者の体内に治療的に有効なレベルの2つの化合物が提供される。また後者は、カクテル療法(例えば、3つ以上の治療剤の投与)にも適用される。

20

30

【0093】

「組合せ療法」という用語は、本開示に記載の治療状態または障害を治療するために、2つ以上の治療剤を投与することを指す。このような投与は、例えば、固定比率の有効成分を有する単一のカプセルにおいて、これらの治療剤を実質的に同時に共投与することを包含する。代替的に、このような投与は、各有効成分ごとに複数の、すなわち別々の容器(例えば、錠剤、カプセル、粉末、及び液体)で共投与することを包含する。粉末及び/または液体は、投与前に所望の用量に再構成または希釈することができる。さらに、このような投与は、各タイプの治療剤を、ほぼ同時に、または異なる時間に、順次使用することも包含する。いずれの場合においても、治療レジメンは、本明細書に記載の状態または障害の治療において、薬物の組合せの有益な効果をもたらす。

40

【0094】

組成物

本明細書で開示する医学的な使用及び方法における抗T S L P F a bは、医薬組成物の形態で対象に投与することができる。

【0095】

いくつかの場合において、本明細書における「抗T S L P F a b」への任意の言及は

50

、ある / その抗 T S L P F a b を含む医薬組成物を指し得る。

【 0 0 9 6 】

いくつかの場合において、抗 T S L P F a b またはその医薬組成物は、ヒトまたは他の動物に、前述の治療方法 / 医学的使用に従って、治療効果をもたらすのに十分な量で投与することができる。

【 0 0 9 7 】

いくつかの場合において、抗 T S L P F a b またはその医薬組成物は、抗 T S L P F a b を、既知の技法に従った従来の医薬的に許容される担体または希釈剤と組み合わせることによって調製される従来の投与形態で、このようなヒトまたは他の動物に投与することができる。

10

【 0 0 9 8 】

当業者であれば、医薬的に許容される担体または希釈剤の形態及び特性は、組み合わせられる有効成分の量、投与経路、及び他の周知された変数によって規定されることを認識するであろう。

【 0 0 9 9 】

いくつかの場合において、医薬組成物は、医薬的に許容される無毒性の無菌担体（例えば、生理的食塩水、無毒性の緩衝液、防腐剤など）を含むように製剤化される。いくつかの場合において、医薬組成物は、無菌の水性または非水性の溶液、懸濁液、及び乳濁液を含むことができる。本明細書で開示する治療方法での使用に適した製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980) に記載されている。

20

【 0 1 0 0 】

いくつかの場合において、抗 T S L P F a b またはその医薬組成物の投与経路は、例えば、経口、非経口、吸入、または局所である。いくつかの場合において、非経口投与という用語は、本明細書で使用する場合、例えば、静脈内投与、動脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、皮下投与、経直腸投与、または経膈投与を含む。

【 0 1 0 1 】

いくつかの場合において、抗 T S L P F a b またはその医薬組成物は、経鼻エアロゾルまたは吸入によって投与することができる。

【 0 1 0 2 】

いくつかの場合において、当該医薬組成物を調製するための本明細書で挙げた成分は、キットの形態でパッケージ化され、販売することができる。このようなキットは、いくつかの場合において、関連する医薬組成物が、疾患または障害に罹患しているまたは罹患しやすい対象の治療に有用であることを示す、ラベルまたは添付文書を有する。

30

【 実施例 】

【 0 1 0 3 】

実施例 1

テゼペルマブについての安定性試験を 1 × P B S 中で 4 または 4 5 で実施した。1 mg / ml のテゼペルマブを含む溶液を欠く条件下で 2 週間保存した。

【 0 1 0 4 】

その結果、D - P B S 中 4 5 で 2 週間放置後、10 % の単量体損失が観察された（図 1）。単量体損失 %、凝集 %、フラグメント化 % を、H P - S E C クロマトグラムから曲線下面積（A U C）を定量化することによって算出した。溶出体積に基づいて、ピークを単量体、凝集体、フラグメント化産物として割り当てた。A U C は、H P S E C 解析ソフトウェアとともに提供される標準的な解析ツールを用いて算出することができる。

40

【 0 1 0 5 】

テゼペルマブの重鎖相補性決定領域及び軽鎖相補性決定領域（C D R）を含み、C H 1 ドメインに複数の変異を有する F a b を構築した。この F a b を本明細書では F a b 1 と称する。F a b 1 の安定性を、テゼペルマブについて上述したように解析した。結果を図 2 に示す。

50

【0106】

驚くべきことに、Fab1は、0.8mg/mlで2週間保存したときに、加速安定性試験条件下(45℃で1xPBS)で安定性特性の改善を示した。

【0107】

実施例2：Fab1はヒト及びカニクイザルTSLPにpM親和性で結合するBiacoreにより定量するTSLPに対するFab1結合の親和性Biacore 8K SPR装置(GE Healthcare (Little Chalfont, Bucks, UK))を用いて、組換え哺乳類細胞発現ヒト及びカニクイザルTSLPに対するFab1の特異性及び親和性を定量した。

【0108】

S Series C1バイオセンサーチップ、アミンカップリングキット、hepes緩衝食塩水ベース緩衝液、及び再生緩衝液をGE Healthcareから入手し、製造業者の指示に従って使用した。D-PBSで再構成した凍結乾燥ストレプトアビジンを使用して、ストレプトアビジン表面を調製した。簡潔に説明すると、ストレプトアビジンを10mM酢酸ナトリウムpH4.5で4µg/mLに希釈し、標準的なアミンカップリング法を使用してS Series C1バイオセンサーチップの2つのフローセル表面に共有結合的に固定化した。最終的に、170レスポンスユニット(RU)のストレプトアビジン表面を達成した。また、アミンカップリング試薬を使用して、ストレプトアビジンが固定化されていない対照ブランク表面を調製して、各フローセル内の参照表面として使用した。次いで、N末端タグ付きビオチン化TSLP(ヒト及びカニクイザル)を各ストレプトアビジン表面に滴定して、飽和状態で<100 RUのFab1結合となるようにした(Rmax)。アナライト結合を低レベルにすることで、特に、カイネティクス測定ステップ中に使用される比較的高速の50µL/minのアッセイ流量と組み合わせた場合、マストランスポートにより引き起こされるアーティファクトが確実に最小限に抑えられた。単量体化したFab1の希釈液(1.25~20nMの範囲のHBS-Ep+緩衝液中の2倍希釈液)(Multi-Cycle Kinetics)を50µL/minのアッセイ流量で注入し、2分間の会合及び10分間の解離とした。最終的なセンサーグラムセットのダブルリファレンス処理を可能にするため、実験中、同じ条件下で緩衝液のみの注入を複数回行った。

【0109】

10mMグリシン(pH1.7)を30秒パルスで2回流することによって、チップ表面を完全に再生した。1:1ラングミュアモデルを用いて結合親和性及び動態を定量した。

【0110】

表1に示す結果から、Fab1が、固定化したヒト及びカニクイザルTSLPと同様の親和性(2倍以内;それぞれ46pM及び88pM)で結合することが示されている。

【表1】

表1：Biacoreを用いたヒト及びカニクイザルTSLPに対するFab1の親和性

アナライト	ka (M ⁻¹ s ⁻¹)	kd (s ⁻¹)	KD (pM)
ヒトTSLP	2.39E6	1.11E-4	46.3
カニクイザルTSLP	1.75E6	1.55E-4	88.4

【0111】

キネティック排除アッセイ(KinExA)による結合親和性の定量。KinExA 3200装置(Sapidyne Instruments, Boise, Idaho, USA)を用いて、ヒト及びカニクイザルTSLPに対するFab1の溶液相結合親和性(KD)も定量し、得られたデータをKinExA Pro soft

10

20

30

40

50

ware version 4.1.11を用いて処理した。KinExAの方法論は概説されている(Darling and Brault, 2004)。

【0112】

Fab1を、ヒト及びカニクイザルTSLPの濃度を変えながら平衡に達するまでプレミックスした(2倍系列希釈法を用いて、少なくとも12の濃度のヒト及びカニクイザルTSLPを各々調製した)。次にKinExA装置を用いて、ヒトTSLPコートビーズを用いて遊離Fabを捕捉し、未結合物質を洗い流し、市販の種特異的抗体(Alexa Fluor 647標識マウス抗ヒト重鎖及び軽鎖特異的抗体(Jackson ImmunoResearch 209-605-088))を用いて結合Fab1を蛍光的に検出することにより、遊離Fab1の量を測定した。ヒトTSLPに対するFab1のKDを、1000 pM(塗りつぶした菱形)、500 pM(塗りつぶした逆三角形)、または40 pM(白抜きの四角形)の固定Fab1濃度溶液へのヒトTSLP滴定に由来する3つのデータセットにグローバル1:1フィットを行うことにより、抽出した(図3)。カニクイザルTSLPに対するFab1のKDを、1000 pM(塗りつぶした菱形)または40 pM(白抜きの四角形)の固定Fab1濃度溶液へのカニクイザルTSLP滴定に由来する2つのデータセットにグローバル1:1フィットを行うことにより、抽出した(図4)。

10

【0113】

ヒト及びカニクイザルの各々のTSLP濃度で検出した遊離Fab1の量を、TSLPの滴定濃度に対しプロットした(それぞれ図3及び4)。KinExAソフトウェアを使用して平衡解離定数(KD)を算出した。表2に示す結果は、Fab1が、遊離溶液中でカニクイザルTSLPに結合するよりも1.7倍高い親和性でヒトTSLPに結合することを示している。

20

【表2】

表2: KinExAを用いたヒト及びカニクイザルTSLPに対するFab1の可溶相親和性

リガンド	親和性 (KD) pM
ヒトTSLP	8.0 (95%信頼区間6.27-10.01 pM)
カニクイザルTSLP	13.6 (95%信頼区間9.07-19.22 pM)

30

【0114】

実施例3: Fab1及びテゼベルマブは同様の結合特性によりTSLPに結合するFab1のヒトTSLPに対する結合特性をテゼベルマブと直接比較した。

【0115】

均質蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)均一時間分解蛍光(HTRF(登録商標)、Cisbio International)ベースのTSLP:mAb結合アッセイを用いて、Fab1のin vitro結合効力を定量した。ストレプトアビジンクリプテートをビオチン化TSLPの検出に使用した。簡潔に説明すると、非標識Fab1の試料をHTRFアッセイに滴定して、ビオチン化His-AviヒトTSLPへの結合についてDyLight標識テゼベルマブと競合させた。また、非標識テゼベルマブ及びDyLight標識テゼベルマブを陽性対照として用いた競合アッセイも実施した。

40

【0116】

その結果、Fab1が、ヒトTSLPへの結合についてテゼベルマブと競合し、テゼベルマブと同様の効力でヒトTSLPに結合することが示されている(IC50: Fab1: 0.38 nM; テゼベルマブ: 0.23 nM(図5))。

【0117】

50

実施例 4 : F a b 1 は末梢血単核細胞 (P B M C) アッセイで T S L P 活性を中和する次に、 T S L P に結合する F a b 1 が一次細胞アッセイで機能的遮断活性を有するかどうかを、 F a b 1 で処置した際の P B M C からの T S L P 誘導性 C C L 1 7 放出を測定することにより、決定した。

【 0 1 1 8 】

Med Immune (Cambridge , UK) で確立した献血プログラム下で、健康なドナーから血液を入手した。フィコール勾配を使用する標準的な手順で、末梢血単核細胞を単離した。簡潔に述べると、 P B S で希釈した 2 0 m l の血液 (血液 1 0 m l : P B S 3 0 m l) を 1 5 m l のフィコール上に重層した。チューブを 4 0 0 g で 4 0 分間、室温でブレーキなしで遠心した。 P B M C 層を回収し、細胞を 5 0 m l の P B S で 2 回洗浄した。 P B M C を、血球計数及び死細胞を除外するトリパンプルーを使用して計数し、培養培地 (1 0 % ウシ胎児血清及び 1 % ペニシリン / ストレプトマイシン含有 R P M I) 中に再懸濁した後、 9 6 ウェルプレートにプレティングした。 T S L P 結合抗体フラグメント F a b 1 の存在下で T S L P (0 . 5 n g / m l) により細胞を 4 8 時間刺激した。 T S L P 結合抗体であるテゼベルマブを陽性対照として使用するアッセイも実施した。 4 8 時間後、上清を除去し、 R & D デュオセット E L I S A を製造元のプロトコルに従って使用して、 C C L 1 7 の産生についてアッセイした。 6 例のドナーを用いて 3 回の独立した実験で実験を実施した。

10

【 0 1 1 9 】

その結果、 F a b 1 が、 1 . 3 9 n M の I C 5 0 で P B M C からの C C L 1 7 生成を阻害することが示された (図 6) 。

20

【 0 1 2 0 】

配列

配列番号 1 (F a b 1 重鎖)

Q M Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F R T Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V I W Y D G S N K H Y A D S V K G R F T I T R D N S K N T L N
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R A P Q W E L V H E A F D I W G Q G T M V T V
S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T
V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T
Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K

30

配列番号 2 (F a b 1 軽鎖)

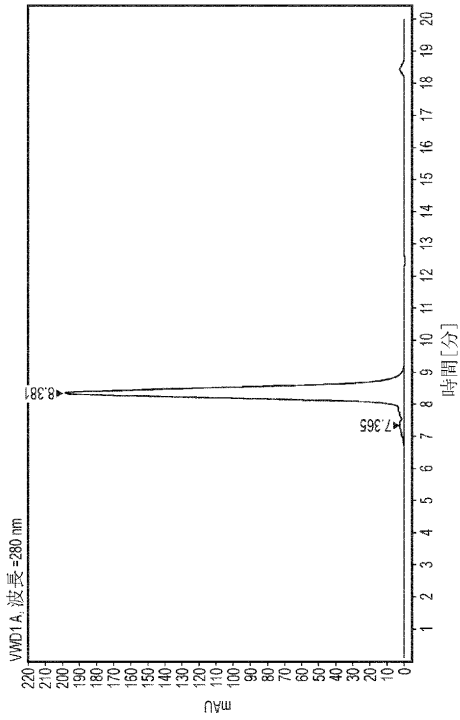
S Y V L T Q P P S V S V A P G Q T A R I T C G G N N L G S K S V H W Y Q Q K P G
Q A P V L V V Y D D S D R P S W I P E R F S G S N S G N T A T L T I S R G E A G
D E A D Y Y C Q V W D S S S D H V V F G G G T K L T V L G Q P K A A P S V T L F
P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D S S P V K A G
V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E
G S T V E K T V A P T E C S

40

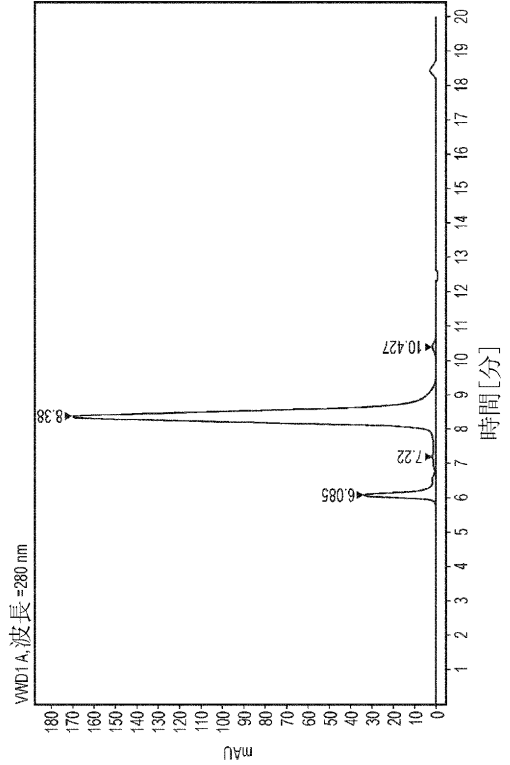
50

【 図 面 】

【 図 1 A 】



【 図 1 B 】



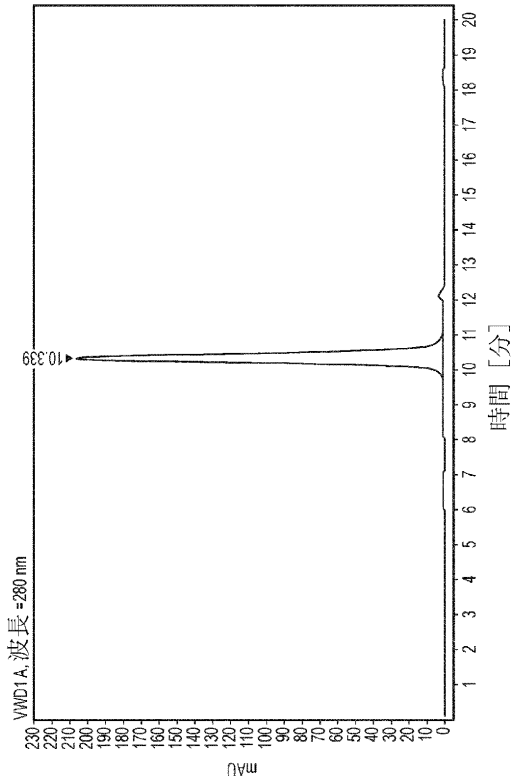
10

20

【 図 1 C 】

IgG	単量体保持時 (分)	T = D-PBS 中 1mg/mL, 40°C で 2 週間		T = D-PBS 中 1mg/mL, 45°C で 2 週間			
		単量体% 凝集体% フラグメント%	単量体% 凝集体% フラグメント%	単量体% 凝集体% フラグメント%	単量体% 凝集体% フラグメント%		
アゼパム/イブuprofen	8.38	98.08	1.92	0	0.65	0.61	0.89
NP228 mg/51	8.32	98.35	0	0.65	0.89	0	0.89

【 図 2 A 】

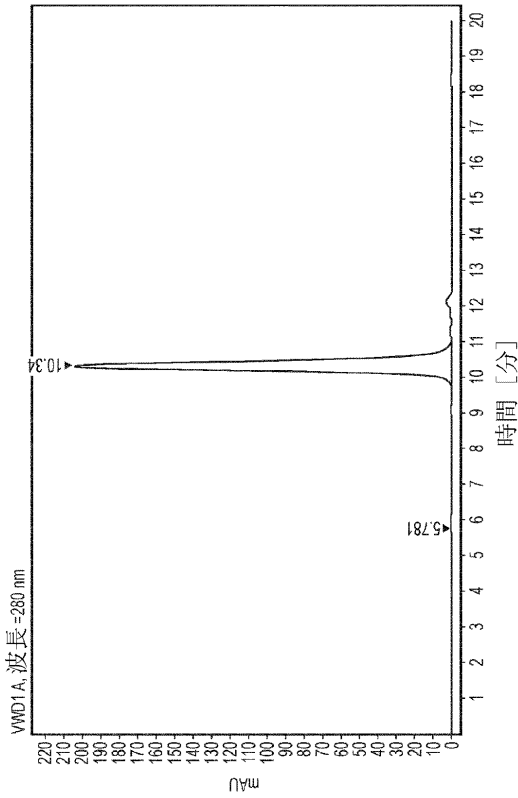


30

40

50

【 図 2 B 】



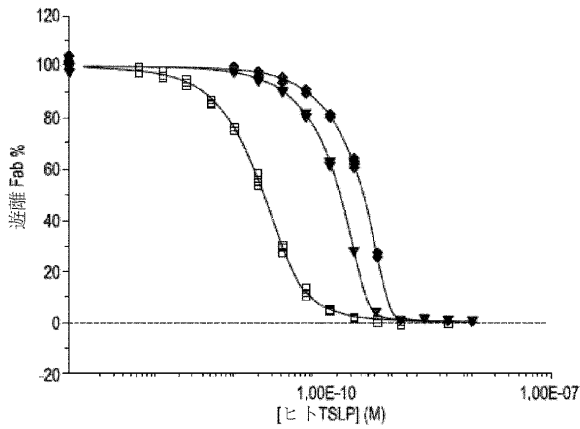
【 図 2 C 】

IgG	濃度 (mg/mL)	遊離体 (分)	T = D-PBS+4C で 2 週間			T = D-PBS+45C で 2 週間		
			単量体 %	遊離体 %	フラグメント %	単量体 %	遊離体 %	フラグメント %
Fab1	0.76	10.3	100	0	0	0.23	0	0
R347Fab1	0.46	10.3	100	0	0	0.23	0	0

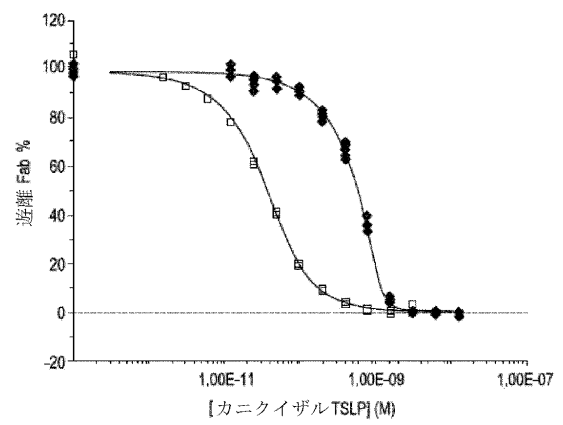
10

20

【 図 3 】



【 図 4 】

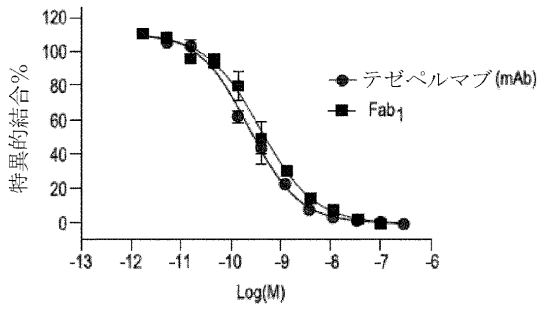


30

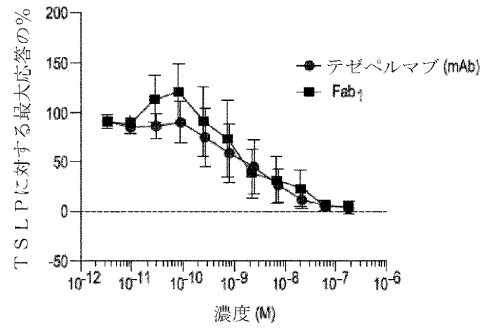
40

50

【 図 5 】



【 図 6 】



10

【 配列表 】

2024516962000001.app

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/060236

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	C07K16/24	A61K39/395
	A61P11/06	A61P29/00
	A61P31/04	A61P37/04
ADD. 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) C07K A61P A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2021/083908 A1 (MEDIMMUNE LTD [GB]) 6 May 2021 (2021-05-06) paragraphs [0081], [0082], [0088] claims 1,16-18 sequences 28,29	1-16
A	WO 2018/191479 A1 (AMGEN INC [US]; MEDIMMUNE LLC [US]) 18 October 2018 (2018-10-18) sequences 105, 106	1-16
A	WO 2021/043221 A1 (BIOSION INC [CN]; CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO LTD [CN]) 11 March 2021 (2021-03-11) sequence 36	1-16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 "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 21 July 2022		Date of mailing of the international search report 01/08/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Tudor, Mark

10

20

30

40

1

50

International application No.

PCT/EP2022/060236

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

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 13ter.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 13ter.1(a)).

on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.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:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/060236

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021083908 A1	06-05-2021	AR 120309 A1	09-02-2022
		AU 2020376222 A1	02-06-2022
		CA 3154999 A1	06-05-2021
		IL 292437 A	01-06-2022
		KR 20220088752 A	28-06-2022
		TW 202131947 A	01-09-2021
		US 2021121406 A1	29-04-2021
		WO 2021083908 A1	06-05-2021

WO 2018191479 A1	18-10-2018	AU 2018253118 A1	24-10-2019
		BR 112019021482 A2	12-05-2020
		CA 3059364 A1	18-10-2018
		CL 2019002897 A1	06-03-2020
		CN 110573525 A	13-12-2019
		CO 2019011462 A2	31-10-2019
		EP 3609917 A1	19-02-2020
		IL 269791 A	28-11-2019
		JP 2020516647 A	11-06-2020
		KR 20190140956 A	20-12-2019
		PE 20200484 A1	03-03-2020
		PH 12019502331 A1	28-09-2020
		SG 11201909322V A	28-11-2019
		TW 201838652 A	01-11-2018
		US 2018296669 A1	18-10-2018
		US 2021052726 A1	25-02-2021
		UY 37676 A	31-10-2018
WO 2018191479 A1	18-10-2018		

WO 2021043221 A1	11-03-2021	CN 113423733 A	21-09-2021
		EP 4025602 A1	13-07-2022
		KR 20220038760 A	29-03-2022
		WO 2021043221 A1	11-03-2021

10

20

30

40

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
	A 6 1 K 39/395	N
	A 6 1 K 39/395	U

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,N
E,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,JM,JO,J
P,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,N
A,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

弁理士 櫻井 陽子

- (72)発明者 コルベック, ローランド ウィルヘルム
アメリカ合衆国 2 0 8 7 8 メリーランド州ゲイザーズバーグ、ワン・メディミュン・ウェイ、メ
ディミュン・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー内
- (72)発明者 コーエン, エマ スザンヌ
英国シービー 2 ・ 0 エイエイ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、フランシス・クリック・アベ
ニュー 1、ケンブリッジ・バイオメディカル・キャンパス、アストラゼネカ・ユーケイ・リミテッ
ド内
- (72)発明者 ハンティントン, キャサリン ユージェニー
英国シービー 2 1 ・ 6 ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング、メドイミュン・リミテッド内
- F ターム (参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01
4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA92Y AA94Y AB01 AC14 BA02 CA25
CA44
4C085 AA13 AA14 BB31 BB36 BB41 CC22 CC23 EE01
4H045 AA11 AA30 DA76 EA20 FA74