

【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】平成27年8月27日(2015.8.27)

【公表番号】特表2014-526884(P2014-526884A)

【公表日】平成26年10月9日(2014.10.9)

【年通号数】公開・登録公報2014-056

【出願番号】特願2014-517838(P2014-517838)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	16/28	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)
C 1 2 P	21/06	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 0 7 K	16/28	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 2
C 1 2 N	5/00	1 0 3
C 1 2 P	21/08	
C 1 2 P	21/06	
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	35/00	

【手続補正書】

【提出日】平成27年7月6日(2015.7.6)

【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】

以下の段階を含む、少なくとも重鎖を含む抗体を宿主細胞において產生する方法：

(a) 該重鎖をコードするヌクレオチド構築物を提供する段階であって、該構築物が該重鎖のC末端においてリジン残基をコードしない、段階、

(b) 宿主細胞において該ヌクレオチド構築物を発現させる段階であって、ただし該宿主細胞がCHO細胞または蘇類細胞ではない、段階、および

(c) 該宿主細胞の細胞培養物から該抗体を回収する段階。

【請求項2】

前記宿主細胞が、軽鎖をコードする構築物をさらに発現する、請求項1記載の方法。

【請求項3】

前記宿主細胞が、タンパク質のAsn結合型グリコシル化の能力を有する、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】

前記宿主細胞が、ヒト様グリコシル化またはヒトグリコシル化されている糖タンパク質を產生するように遺伝子操作されている非ヒト細胞である、前記請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項5】

前記宿主細胞が、抗体重鎖からC末端リジン残基を効率的に除去できない宿主細胞である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

前記宿主細胞が、C末端リジンを含む構築物を発現する場合に抗体分子の10%超、例えば30%超がK2アイソフォームである抗体調製物を產生する、宿主細胞である、請求項5記載の方法。

【請求項7】

前記宿主細胞が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の方法：

- (a) 酵母細胞、例えばピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)またはサッカロマイセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)、ハンセヌラ・ポリモルファ(*Hansenula polymorpha*)およびオガタエ・ミニュータ(*Ogataea minuta*)、
- (b) 糸状菌細胞、例えばアスペルギルス・アワモリ(*Aspergillus awamori*)、アスペルギルス・ニガー(*Aspergillus niger*)、アスペルギルス・オリゼー(*Aspergillus oryzae*)、トリコデルマ・リーゼイ(*Trichoderma reesii*)、
- (c) 植物細胞、例えばシロイヌナズナ(*Arabidopsis*)細胞、コウキクサ(*Lemna minor*)、ニコチアナ・ベンサミアナ(*Nicotiana benthamiana*)（タバコ）、油料種子作物（ブ拉斯カ・ナップス(*Brassica napus*)）、大豆、米、トウモロコシ（ズイー・メイス(*Zea mays*)）またはニンジン細胞、
- (d) NS0細胞、Sp2/0細胞、およびPER.C6細胞。

【請求項8】

前記段階(a)において提供される前記ヌクレオチド構築物が、C末端リジン残基に対するコドンを有する本来の重鎖配列に由来するか、またはそれに基づいてデザインされ、例えば、該ヌクレオチド構築物が、該本来の重鎖配列と比べてC末端リジン残基に対するコドンの欠失または置換を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

前記重鎖をコードする構築物が該重鎖のC末端においてリジンまたはアルギニンをコードせず、好ましくは、該重鎖をコードする構築物が該重鎖のC末端において荷電アミノ酸残基をコードしない、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項10】

前記ヌクレオチド構築物が、C末端修飾以外は、IgG1またはIgG2アイソタイプの重鎖をコードする、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

前記ヌクレオチド構築物のC末端コドンが、ProまたはGly残基をコードする、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

前記請求項のいずれか一項記載の方法によって入手されるまたは入手可能な単離された抗体。

【請求項13】

抗体重鎖からC末端リジン残基を効率的に除去できない宿主細胞であって、C末端リジンを欠く重鎖をコードするヌクレオチド構築物を含む、前記宿主細胞。

【請求項14】

請求項7で指定されたタイプのうちの1つである、請求項13記載の宿主細胞。

【請求項 15】

補体依存性細胞傷害を媒介する抗体の能力を増強する方法であって、抗体の重鎖からC末端リジン残基を除去する段階を含む、前記方法。

【請求項 16】

前記リジン残基が酵素的切断によって、例えばカルボキシペプチダーゼを用いて除去される、請求項15記載の方法。

【請求項 17】

前記抗体がC末端リジン残基の除去の前に精製される、請求項15または16記載の方法。

【請求項 18】

前記抗体がIgG1またはIgG2アイソタイプである、請求項15～17のいずれか一項記載の方法。

【請求項 19】

複数の抗体産生細胞培養物、例えばハイブリドーマ細胞培養物を、所望の特性について試験する方法であって、該ハイブリドーマの培養物のサンプルを請求項15～18のいずれか一項記載の方法で処理する段階、および処理したサンプルを所望の特性について試験する段階を含む、前記方法。

【請求項 20】

前記所望の特性が細胞溶解または細胞致死である、請求項19記載の方法。

【請求項 21】

タンパク質分解による除去を受けにくい少なくとも1つの荷電アミノ酸残基をC末端領域に有する重鎖を含む、単離された抗体バリアント。

【請求項 22】

軽鎖をさらに含む、請求項21記載の抗体バリアント。

【請求項 23】

前記荷電アミノ酸残基のない抗体と比べて補体依存性細胞傷害を媒介する能力が低下している、前記請求項21～22のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 24】

前記荷電アミノ酸残基が、哺乳動物由来のプロテアーゼによる除去を受けにくく、好ましくはCHO、HEK-293、PER.C6、NS0またはSp2/0由来のプロテアーゼによる除去を受けにくく、より好ましくはCHO、HEK-293、PER.C6、NS0またはSp2/0細胞の分泌経路において活性なプロテアーゼによる除去を受けにくい、前記請求項21～23のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 25】

前記荷電アミノ酸残基が、ヒトプロテアーゼによる除去を受けにくく、好ましくは循環中のタンパク質に作用しうるヒトプロテアーゼによる除去を受けにくい、前記請求項21～24のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 26】

前記荷電アミノ酸が、最もC末端側の6つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記重鎖の最もC末端側の5つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記重鎖の最もC末端側の4つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記重鎖の最もC末端側の3つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記重鎖の最もC末端側の2つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記荷電アミノ酸が前記重鎖の最もC末端側のアミノ酸残基である、前記請求項21～25のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 27】

前記重鎖が、SEQ ID NO:1、2、3または5に記載されたCH3配列を含み、かつ前記荷電アミノ酸が、それぞれ325位～330位、321位～326位、372位～377位および325位～330位の間に位置する、前記請求項21～26のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 28】

前記重鎖が、SEQ ID NO:1、2、3または5に記載された定常領域配列全体を含み、かつ前記荷電アミノ酸が、それぞれ325位～330位、321位～326位、372位～377位および325位～3

30位の間に位置する、前記請求項21～27のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 29】

前記荷電アミノ酸が、正荷電アミノ酸残基、好ましくはリジン残基である、前記請求項21～28のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 30】

前記荷電アミノ酸が、負荷電アミノ酸残基、好ましくはグルタミン酸残基である、前記請求項21～28のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 31】

前記荷電アミノ酸残基が、該荷電アミノ酸残基のC末端側にある位置でのアミノ酸修飾によってタンパク質分解による除去を受けにくい、前記請求項21～30のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 32】

前記荷電アミノ酸残基が、該荷電アミノ酸残基のC末端側にあるプロリン残基の存在によってタンパク質分解による除去を受けにくく、好ましくは、該プロリン残基が該荷電アミノ酸残基のすぐC末端側に位置し、より好ましくは、該荷電アミノ酸残基および該プロリン残基が前記重鎖の最もC末端側の2つのアミノ酸残基である、前記請求項21～31のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 33】

前記重鎖が、2つまたはそれより多い荷電アミノ酸残基、例えば2つ、3つ、4つまたは5つの荷電アミノ酸残基をC末端領域に含み、該荷電アミノ酸残基が、好ましくは全て正電荷または全て負電荷のいずれかを有する、前記請求項21～32のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 34】

指定されたアミノ酸修飾が、アミノ酸置換の結果である、前記請求項21～33のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 35】

指定されたアミノ酸修飾が、C末端アミノ酸付加の結果である、前記請求項21～34のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 36】

前記抗体が、ヒト抗体、好ましくはヒトIgG1抗体またはヒトIgG3抗体である、前記請求項21～35のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 37】

前記抗体重鎖が、C末端にプロリン残基が付加されている、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4重鎖である、前記請求項21～36のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 38】

前記抗体がC末端で結合されていない、前記請求項21～37のいずれか一項記載の抗体バリアント。

【請求項 39】

医薬として用いるための、請求項21～38のいずれか一項記載の抗体。

【請求項 40】

タンパク質分解による除去を受けにくい荷電アミノ酸残基をC末端領域に有する重鎖をコードする、ヌクレオチド構築物。

【請求項 41】

請求項22～38のいずれか一項記載のさらなる特徴を有する、請求項40記載のヌクレオチド構築物。

【請求項 42】

請求項21～38のいずれか一項記載の抗体バリアントを産生できる、宿主細胞。

【請求項 43】

重鎖からC末端リジンを除去できるカルボキシペプチダーゼの活性を取り除くように遺伝子組み換えされた、宿主細胞。

【請求項 4 4】

CHO、HEK-293、PER.C6、NS0またはSp2/0細胞である、請求項43記載の宿主細胞。

【請求項 4 5】

請求項21～38のいずれか一項記載の抗体バリアントを產生する方法であって、請求項42～44のいずれか一項記載の宿主細胞を培養する段階、および該細胞の培養物から該抗体を回収する段階を含む、前記方法。

【請求項 4 6】

前記宿主細胞が、C末端に負荷電アミノ酸残基を有するかまたはC末端において正荷電アミノ酸残基の後にプロリン残基を有する重鎖をコードするヌクレオチド構築物を含むCHOまたはHEK細胞である、請求項45記載の方法。

【請求項 4 7】

少なくとも1つの正荷電アミノ酸残基をC末端領域に有する重鎖を含む抗体バリアント分子の亜集団と、少なくとも1つの負荷電アミノ酸残基をC末端領域に有する重鎖を含む抗体バリアント分子の亜集団とを含む抗体混合物であって、該正荷電アミノ酸残基および該負荷電アミノ酸残基がタンパク質分解による除去を受けにくい、前記抗体混合物。

【請求項 4 8】

前記亜集団の各々が前記混合物の少なくとも10%、例えば少なくとも20%、例えば前記混合物の少なくとも30%を構成する、請求項47記載の抗体混合物。

【請求項 4 9】

前記抗体分子が請求項22～38のいずれか一項または複数項において指定された特性を有する、請求項47または48記載の抗体混合物。

【請求項 5 0】

2つの亜集団の各々における抗体分子が、2本の同一の重鎖を含む、前記請求項47～49のいずれか一項記載の抗体混合物。

【請求項 5 1】

医薬として用いるための、好ましくはがんの治療において用いるための前記請求項47～50のいずれか一項記載の抗体混合物。

【請求項 5 2】

抗体分子の間での分子間C末端相互作用に有利に働く1つまたは複数のアミノ酸修飾を含む変異C末端領域を有する重鎖を含む、単離された抗体。

【請求項 5 3】

前記アミノ酸修飾のない抗体と比べて補体依存性細胞傷害を媒介する能力が増強されている、請求項52記載の抗体。

【請求項 5 4】

2本の同一ではない重鎖を含む、請求項52記載の抗体。

【請求項 5 5】

一方の重鎖がC末端領域に負荷電アミノ酸残基を含み、かつ他方の重鎖がC末端領域に正荷電アミノ酸残基を含み、該荷電アミノ酸残基がタンパク質分解による除去を受けにくい、請求項52記載の抗体。

【請求項 5 6】

单一特異性抗体である、前記請求項52～55のいずれか一項記載の抗体。

【請求項 5 7】

二重特異性抗体である、前記請求項52～55のいずれか一項記載の抗体。

【請求項 5 8】

医薬として用いるための前記請求項52～57のいずれか一項記載の抗体。

【請求項 5 9】

請求項52～57のいずれか一項記載の抗体を產生する方法であって、前記重鎖をコードするヌクレオチド構築物を含む宿主細胞を培養する段階、および該宿主細胞の細胞培養物から該抗体を回収する段階を含む、前記方法。

【請求項 6 0】

前記宿主細胞がCHOまたはHEK細胞である、請求項59記載の方法。

[手続補正2]

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0023】

別のそのような局面において、本発明は、抗体分子の間での分子間C末端相互作用に有利に働く1つまたは複数のアミノ酸修飾を含む変異C末端領域を有する重鎖を含む抗体を提供する。

[本発明1001]

以下の段階を含む、少なくとも重鎖を含む抗体を宿主細胞において産生する方法：

- (a) 該重鎖をコードするヌクレオチド構築物を提供する段階であって、該構築物が該重鎖のC末端においてリジン残基をコードしない、段階、
- (b) 宿主細胞において該ヌクレオチド構築物を発現させる段階であって、ただし該宿主細胞がCHO細胞または酵母細胞ではない、段階、および
- (c) 該宿主細胞の細胞培養物から該抗体を回収する段階。

[本発明1002]

前記宿主細胞が、軽鎖をコードする構築物をさらに発現する、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記宿主細胞が、タンパク質のAsn結合型グリコシル化の能力を有する、本発明1001または1002の方法。

[本発明1004]

前記宿主細胞が、ヒト様グリコシル化またはヒトグリコシル化されている糖タンパク質を産生するように遺伝子操作されている非ヒト細胞である、前記本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1005]

前記宿主細胞が、抗体重鎖からC末端リジン残基を効率的に除去できない宿主細胞である、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1006]

前記宿主細胞が、C末端リジンを含む構築物を発現する場合に抗体分子の10%超、例えば30%超がK2アイソフォームである抗体調製物を産生する、宿主細胞である、本発明1005の方法。

[本発明1007]

前記宿主細胞が以下からなる群より選択される、前記本発明のいずれかの方法：

- (a) 酵母細胞、例えばピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)またはサッカロマイセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)、ハンセンユラ・ポリモルファ(*Hansenula polymorpha*)およびオガタエ・ミニュータ(*Ogataea minuta*)、
- (b) 糸状菌細胞、例えばアスペルギルス・アワモリ(*Aspergillus awamori*)、アスペルギルス・ニガー(*Aspergillus niger*)、アスペルギルス・オリゼー(*Aspergillus oryzae*)、トリコデルマ・リーゼイ(*Trichoderma reesi*)、
- (c) 植物細胞、例えばシロイヌナズナ(*Arabidopsis*)細胞、コウキクサ(*Lemna minor*)、ニコチアナ・ベンサミアナ(*Nicotiana benthamiana*)（タバコ）、油料種子作物（ブロッサム・ナップス(*Brassica napus*)）、大豆、米、トウモロコシ（ズイード・メイス(*Zea mays*)）またはニンジン細胞、
- (d) NS0細胞、Sp2/0細胞、およびPER.C6細胞。

[本発明1008]

前記段階(a)において提供される前記ヌクレオチド構築物が、C末端リジン残基に対するコドンを有する本来の重鎖配列に由来するか、またはそれに基づいてデザインされ、例えば、該ヌクレオチド構築物が、該本来の重鎖配列と比べてC末端リジン残基に対するコド

ンの欠失または置換を含む、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1009]

前記重鎖をコードする構築物が該重鎖のC末端においてリジンまたはアルギニンをコードせず、好ましくは、該重鎖をコードする構築物が該重鎖のC末端において荷電アミノ酸残基をコードしない、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1010]

前記ヌクレオチド構築物が、C末端修飾以外は、IgG1またはIgG2アイソタイプの重鎖をコードする、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1011]

前記ヌクレオチド構築物のC末端コドンが、ProまたはGly残基をコードする、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1012]

前記本発明のいずれかの方法によって入手されるまたは入手可能な単離された抗体。

[本発明1013]

抗体重鎖からC末端リジン残基を効率的に除去できない宿主細胞であって、C末端リジンを欠く重鎖をコードするヌクレオチド構築物を含む、前記宿主細胞。

[本発明1014]

本発明1007で指定されたタイプのうちの1つである、本発明1013の宿主細胞。

[本発明1015]

補体依存性細胞傷害を媒介する抗体の能力を増強する方法であって、抗体の重鎖からC末端リジン残基を除去する段階を含む、前記方法。

[本発明1016]

前記リジン残基が酵素的切断によって、例えばカルボキシペプチダーゼを用いて切斷される、本発明1015の方法。

[本発明1017]

前記抗体がC末端リジン残基の除去の前に精製される、本発明1015または1016の方法。

[本発明1018]

前記抗体がIgG1またはIgG2アイソタイプである、本発明1015～1017のいずれかの方法。

[本発明1019]

複数の抗体産生細胞培養物、例えばハイブリドーマ細胞培養物を、所望の特性について試験する方法であって、該ハイブリドーマの培養物のサンプルを本発明1015～1018のいずれかの方法で処理する段階、および処理したサンプルを所望の特性について試験する段階を含む、前記方法。

[本発明1020]

前記所望の特性が細胞溶解または細胞致死である、本発明1019の方法。

[本発明1021]

タンパク質分解による除去を受けにくい少なくとも1つの荷電アミノ酸残基をC末端領域に有する重鎖を含む、単離された抗体バリアント。

[本発明1022]

軽鎖をさらに含む、本発明1021の抗体バリアント。

[本発明1023]

前記荷電アミノ酸残基のない抗体と比べて補体依存性細胞傷害を媒介する能力が低下している、前記本発明1021～1022のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1024]

前記荷電アミノ酸残基が、哺乳動物由来のプロテアーゼによる除去を受けにくく、好ましくはCHO、HEK-293、PER.C6、NS0またはSp2/0由来のプロテアーゼによる除去を受けにくく、より好ましくはCHO、HEK-293、PER.C6、NS0またはSp2/0細胞の分泌経路において活性なプロテアーゼによる除去を受けにくい、前記本発明1021～1023のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1025]

前記荷電アミノ酸残基が、ヒトプロテアーゼによる除去を受けにくく、好ましくは循環中のタンパク質に作用しうるヒトプロテアーゼによる除去を受けにくい、前記本発明1021～1024のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1026]

前記荷電アミノ酸が、最もC末端側の6つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記重鎖の最もC末端側の5つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記重鎖の最もC末端側の4つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記重鎖の最もC末端側の3つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記重鎖の最もC末端側の2つのアミノ酸残基の中にあり、例えば前記荷電アミノ酸が前記重鎖の最もC末端側のアミノ酸残基である、前記本発明1021～1025のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1027]

前記重鎖が、SEQ ID NO:1、2、3または5に記載されたCH3配列を含み、かつ前記荷電アミノ酸が、それぞれ325位～330位、321位～326位、372位～377位および325位～330位の間に位置する、前記本発明1021～1026のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1028]

前記重鎖が、SEQ ID NO:1、2、3または5に記載された定常領域配列全体を含み、かつ前記荷電アミノ酸が、それぞれ325位～330位、321位～326位、372位～377位および325位～330位の間に位置する、前記本発明1021～1027のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1029]

前記荷電アミノ酸が、正荷電アミノ酸残基、好ましくはリジン残基である、前記本発明1021～1028のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1030]

前記荷電アミノ酸が、負荷電アミノ酸残基、好ましくはグルタミン酸残基である、前記本発明1021～1028のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1031]

前記荷電アミノ酸残基が、該荷電アミノ酸残基のC末端側にある位置でのアミノ酸修飾によってタンパク質分解による除去を受けにくく、前記本発明1021～1030のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1032]

前記荷電アミノ酸残基が、該荷電アミノ酸残基のC末端側にあるプロリン残基の存在によってタンパク質分解による除去を受けにくく、好ましくは、該プロリン残基が該荷電アミノ酸残基のすぐC末端側に位置し、より好ましくは、該荷電アミノ酸残基および該プロリン残基が前記重鎖の最もC末端側の2つのアミノ酸残基である、前記本発明1021～1031のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1033]

前記重鎖が、2つまたはそれより多い荷電アミノ酸残基、例えば2つ、3つ、4つまたは5つの荷電アミノ酸残基をC末端領域に含み、該荷電アミノ酸残基が、好ましくは全て正電荷または全て負電荷のいずれかを有する、前記本発明1021～1032のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1034]

指定されたアミノ酸修飾が、アミノ酸置換の結果である、前記本発明1021～1033のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1035]

指定されたアミノ酸修飾が、C末端アミノ酸付加の結果である、前記本発明1021～1034のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1036]

前記抗体が、ヒト抗体、好ましくはヒトIgG1抗体またはヒトIgG3抗体である、前記本発明1021～1035のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1037]

前記抗体重鎖が、C末端にプロリン残基が付加されている、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG

4重鎖である、前記本発明1021～1036のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1038]

前記抗体がC末端で結合されていない、前記本発明1021～1037のいずれかの抗体バリアント。

[本発明1039]

医薬として用いるための、本発明1021～1038のいずれかの抗体。

[本発明1040]

タンパク質分解による除去を受けにくい荷電アミノ酸残基をC末端領域に有する重鎖をコードする、スクレオチド構築物。

[本発明1041]

本発明1022～1038のいずれかのさらなる特徴を有する、本発明1040のスクレオチド構築物。

[本発明1042]

本発明1021～1038のいずれかの抗体バリアントを産生できる、宿主細胞。

[本発明1043]

重鎖からC末端リジンを除去できるカルボキシペプチダーゼの活性を取り除くように遺伝子組み換えされた、宿主細胞。

[本発明1044]

CHO、HEK-293、PER.C6、NS0またはSp2/0細胞である、本発明1043の宿主細胞。

[本発明1045]

本発明1021～1038のいずれかの抗体バリアントを産生する方法であって、本発明1042～1044のいずれかの宿主細胞を培養する段階、および該細胞の培養物から該抗体を回収する段階を含む、前記方法。

[本発明1046]

前記宿主細胞が、C末端に負荷電アミノ酸残基を有するかまたはC末端において正荷電アミノ酸残基の後にプロリン残基を有する重鎖をコードするスクレオチド構築物を含むCHOまたはHEK細胞である、本発明1045の方法。

[本発明1047]

少なくとも1つの正荷電アミノ酸残基をC末端領域に有する重鎖を含む抗体バリアント分子の亜集団と、少なくとも1つの負荷電アミノ酸残基をC末端領域に有する重鎖を含む抗体バリアント分子の亜集団とを含む抗体混合物であって、該正荷電アミノ酸残基および該負荷電アミノ酸残基がタンパク質分解による除去を受けにくい、前記抗体混合物。

[本発明1048]

前記亜集団の各々が前記混合物の少なくとも10%、例えば少なくとも20%、例えば前記混合物の少なくとも30%を構成する、本発明1047の抗体混合物。

[本発明1049]

前記抗体分子が本発明1022～1038のいずれか一つまたは複数において指定された特性を有する、本発明1047または1048の抗体混合物。

[本発明1050]

2つの亜集団の各々における抗体分子が、2本の同一の重鎖を含む、前記本発明1047～1049のいずれかの抗体混合物。

[本発明1051]

医薬として用いるための、好ましくはがんの治療において用いるための前記本発明1047～1050のいずれかの抗体混合物。

[本発明1052]

抗体分子の間での分子間C末端相互作用に有利に働く1つまたは複数のアミノ酸修飾を含む変異C末端領域を有する重鎖を含む、単離された抗体。

[本発明1053]

前記アミノ酸修飾のない抗体と比べて補体依存性細胞傷害を媒介する能力が増強されている、本発明1052の抗体。

[本発明1054]

2本の同一ではない重鎖を含む、本発明1052の抗体。

[本発明1055]

一方の重鎖がC末端領域に負荷電アミノ酸残基を含み、かつ他方の重鎖がC末端領域に正荷電アミノ酸残基を含み、該荷電アミノ酸残基がタンパク質分解による除去を受けにくい、本発明1052の抗体。

[本発明1056]

单一特異性抗体である、前記本発明1052～1055のいずれかの抗体。

[本発明1057]

二重特異性抗体である、前記本発明1052～1055のいずれかの抗体。

[本発明1058]

医薬として用いるための前記本発明1052～1057のいずれかの抗体。

[本発明1059]

本発明1052～1057のいずれかの抗体を產生する方法であって、前記重鎖をコードする又クレオチド構築物を含む宿主細胞を培養する段階、および該宿主細胞の細胞培養物から該抗体を回収する段階を含む、前記方法。

[本発明1060]

前記宿主細胞がCHOまたはHEK細胞である、本発明1059の方法。