

【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3月14日(2024.3.14)

【国際公開番号】WO2021/210662

【出願番号】特願2022-515444(P2022-515444)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 0 7 K 16/28(2006.01)

C 1 2 P 21/08(2006.01)

C 0 7 K 1/18(2006.01)

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 P 7/00(2006.01)

A 6 1 P 37/06(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 P 35/02(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/13 Z N A

C 0 7 K 16/28

C 1 2 P 21/08

C 0 7 K 1/18

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

20

【手続補正書】

【提出日】令和6年3月5日(2024.3.5)

30

【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】

タンパク質非着色体およびタンパク質着色体を含む溶液から、タンパク質非着色体を分離する工程を含む、当該タンパク質非着色体を含む溶液の製造方法であって、当該分離工程が、

40

(i) 当該溶液をイオン交換担体カラムに投入し、所定の初期pHを有する平衡化バッファを使用し、当該タンパク質非着色体およびタンパク質着色体をイオン交換担体に結合させる工程、

(ii) 当該タンパク質非着色体およびタンパク質着色体が分離されるようあらかじめ定められた条件にて、当該初期pHから終期pHまで変動するpH勾配を形成する溶離バッファを、所定の流速にて当該イオン交換担体カラムに流す工程、ならびに

(iii) 前記工程(ii)により溶離するタンパク質非着色体を含む所定の画分を分取する工程からなる、当該製造方法。

【請求項2】

タンパク質非着色体およびタンパク質着色体を含む溶液から、タンパク質非着色体を分

50

離する工程を含む、当該タンパク質非着色体を含む溶液の製造方法であって、当該分離工程が、

(i) 当該溶液をイオン交換担体カラムに投入する工程、

(i i) 当該溶液中の当該タンパク質着色体が当該イオン交換担体に結合し、当該タンパク質非着色体が結合しないよう調製された平衡化バッファーを所定の流速にて当該イオン交換担体カラムに流す工程、ならびに

(i i i) 前記工程 (i i) においてそのままフロースルーするタンパク質非着色体を含む画分を回収する工程からなる、当該製造方法。

【請求項 3】

タンパク質非着色体およびタンパク質着色体を含む溶液またはその濃縮液の色濃度が、

(1) 第十七改正日本薬局方の一般試験法における項目 2.65 に記載される色の比較試験法における比較標準溶液 BY5 との目視による比較試験において、当該 BY5 よりも濃い、または (2) 当該溶液またはその濃縮液の紫外線吸収測定および蛍光スペクトル測定に基づき算出された、280 nm 波長の紫外線吸収検出ピーク面積に対する蛍光強度検出ピーク面積 (但し、励起波長が 380 nm であり、検出波長が 560 nm である。) の比率に 100 を乗じた値 ($E_m/UV \times 100$ 値) が約 6.3 を超える、請求項 1 または 2 記載の製造方法。

10

【請求項 4】

当該イオン交換担体が、陰イオン交換担体である、請求項 1 ~ 3 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 5】

当該陰イオン交換担体が、弱陰イオン交換担体またはマルチモード・陰イオン交換担体である、請求項 4 記載の製造方法。

20

【請求項 6】

当該弱陰イオン交換担体が、Fractogel (登録商標) EMD DEAE、Fractogel (登録商標) EMD DMAE、Capto (登録商標) DEAE、DEAE Ceramic HyperD (登録商標) F、Toyopearl (登録商標) NH2-750F、TOYOPEARL (登録商標) DEAE-650C、TOYOPEARL (登録商標) DEAE-650M、TOYOPEARL (登録商標) DEAE-650S、Cellufine (登録商標) A-200、Cellufine (登録商標) A-500、Cellufine (登録商標) A-800 および Cellufine (登録商標) MAX DEAE からなる群から選択される、請求項 5 記載の製造方法。

30

【請求項 7】

当該マルチモード・陰イオン交換担体が、Toyopearl (登録商標) NH2-750F、Capto (登録商標) Adhere、Capto (登録商標) Adhere ImpRes、Capto (登録商標) MMC、Capto (登録商標) core 700 および Cellufine (登録商標) IB からなる群から選択される、請求項 5 記載の製造方法。

【請求項 8】

当該イオン交換担体カラムに投入される、タンパク質非着色体およびタンパク質着色体の負荷量が、約 2 ~ 約 200 mg/mL である、請求項 1 ~ 7 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 9】

当該初期 pH から終期 pH までの pH 勾配の範囲が、当該タンパク質着色体および / または当該タンパク質非着色体の各等電点を挟むように設定される、請求項 1 および 3 ~ 8 の何れか一項記載の製造方法。

40

【請求項 10】

当該 pH 勾配が、当該初期 pH から終期 pH まで下降する、請求項 1 および 3 ~ 9 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 11】

当該初期 pH が、約 11.0 ~ 約 7.0 の範囲における任意の pH 値である、請求項 1 および 3 ~ 10 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 12】

当該終期 pH が、約 4.0 ~ 約 8.2 の範囲における任意の pH 値 (但し、当該初期 pH は、当

50

該終期pHよりも約1.0以上高い。)である、請求項1および3～11の何れか一項記載の製造方法。

【請求項13】

当該pH勾配が、リニア勾配またはステップワイズ勾配である、請求項1および3～12の何れか一項記載の製造方法。

【請求項14】

当該溶離バッファが、当該初期pHを有するバッファおよび終期pHを有するバッファの任意の比率による組合せからなる、請求項1および3～13の何れか一項記載の製造方法。

【請求項15】

当該初期pHを有するバッファおよび/または終期pHを有するバッファが、MES、Bis-Tris、ADA、PIPES、ACES、MOPSO、BES、MOPS、TES、HEPES、TAPSO、POPSO、HEPSO、EPPS、Tricine、Bicine、TAPS、CHES、CAPSOおよびCAPSからなる群から各々選択される複数のグッド緩衝剤の組み合わせからなる、請求項14記載の製造方法。

【請求項16】

当該初期pHを有するバッファが、Thermo Scientific(登録商標)CX-1 pH Gradient Buffer B(pH 10.2)であり、終期pHを有するバッファがThermo Scientific(登録商標)CX-1 pH Gradient Buffer A(pH 5.6)である、請求項14記載の製造方法。

【請求項17】

当該初期pHを有するバッファおよび終期pHを有するバッファの組み合わせの比率を連続的または段階的に変化させることにより、当該溶離バッファによるpH勾配を行う、請求項14～16の何れか一項記載の製造方法。

【請求項18】

当該pH勾配が、(a)約4～約6 CVの範囲における任意のカラム容量に相当する間隔毎に、当該溶離バッファ中の終期pHを有するバッファの割合(%)を少なくとも約50～100%の範囲に渡って、約1～約2%の範囲における任意の割合ずつ段階的に増加させることによって行われるか、(b)約30～約40 CVの範囲における任意のカラム容量に相当する範囲において、当該溶離バッファ中のpHを、約0.6～約1.0の範囲における任意のpHずつ段階的に低下させることによって行われる、請求項14～17の何れか一項記載の製造方法。

【請求項19】

請求項1記載の溶離バッファおよび請求項2記載の平衡化バッファの線流速が、各々、約100～約800 cm/hの範囲における任意の線流速である、請求項1～18の何れか一項記載の製造方法。

【請求項20】

請求項1記載の平衡化バッファおよび/または溶離バッファの電気伝導度が、約1～約20 mS/cmの範囲における任意の電気伝導度である、請求項1および3～19の何れか一項記載の製造方法。

【請求項21】

請求項2記載の平衡化バッファの電気伝導度が、約1～約20 mS/cmの範囲における任意の電気伝導度である、請求項2～8および19の何れか一項記載の製造方法。

【請求項22】

請求項2記載の平衡化バッファのpHが、約9.2～約7.4の範囲における任意のpH値である、請求項2～8、19および21の何れか一項記載の製造方法。

【請求項23】

請求項1～22の何れか一項記載の分離工程に含まれる各工程において、適宜必要に応じて、洗浄バッファによる当該イオン交換担体の洗浄工程を含む、請求項1～22の何れか一項記載の製造方法。

10

20

30

40

50

【請求項 2 4】

分取もしくは回収されたタンパク質非着色体画分またはその濃縮液の色濃度が、当該日本薬局方の「色の比較試験法」における比較標準溶液BY5との目視による比較試験において、当該BY5と実質的に同じかあるいはそれよりも薄い、請求項 1 ~ 2 3 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 2 5】

分取もしくは回収されたタンパク質非着色体画分またはその濃縮液の色濃度が、当該日本薬局方の「色の比較試験法」における比較標準溶液BY6との目視による比較試験において、当該BY6と実質的に同じかあるいはそれよりも薄い、請求項 1 ~ 2 3 の何れか一項記載の製造方法。

10

【請求項 2 6】

分取もしくは回収されたタンパク質非着色体画分またはその濃縮液の色濃度が、当該日本薬局方の「色の比較試験法」における比較標準溶液BY7との目視による比較試験において、当該BY7と実質的に同じである、請求項 1 ~ 2 3 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 2 7】

分取もしくは回収されたタンパク質非着色体画分またはその濃縮液の $E_m/UV \times 100$ 値が約 6.3 以下である、請求項 1 ~ 2 3 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 2 8】

分取もしくは回収されたタンパク質非着色体画分またはその濃縮液の $E_m/UV \times 100$ 値が約 4.1 以下である、請求項 1 ~ 2 3 の何れか一項記載の製造方法。

20

【請求項 2 9】

分取もしくは回収されたタンパク質非着色体画分におけるタンパク質濃度が、約 20 ~ 約 300 mg/mL の範囲における任意の濃度である、請求項 1 ~ 2 8 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 3 0】

当該タンパク質が、抗体またはその抗体断片である、請求項 1 ~ 2 9 の何れか一項記載の製造方法。

【請求項 3 1】

当該抗体が、二重特異性抗体である、請求項 3 0 記載の製造方法。

【請求項 3 2】

当該二重特異性抗体が、PD-1 および CD3 に各々特異的に結合することができる二重特異性抗体である、請求項 3 1 記載の製造方法。

30

【請求項 3 3】

PD-1 および CD3 に各々特異的に結合することができる二重特異性抗体が、PD-1 に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖ならびに CD3 に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖からなり、(a) PD-1 に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4 および配列番号 5 から選択される何れか一つのアミノ酸配列からなり、(b) CD3 に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号 6 のアミノ酸配列からなり、および (c) PD-1 に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖および CD3 に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖がともに、配列番号 7 のアミノ酸配列からなる当該二重特異性抗体である、請求項 3 2 記載の製造方法。

40

【請求項 3 4】

PD-1 に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号 5 のアミノ酸配列からなる、請求項 3 3 記載の製造方法。

【請求項 3 5】

請求項 3 3 または 3 4 記載の PD-1 に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該各重鎖の重鎖定常領域が、各々、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12 および配列番号 13 から選択される何れか一つのア

50

ミノ酸配列からなる重鎖定常領域に置換され、同記載のCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該各重鎖の重鎖定常領域が、各々、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18および配列番号19から選択される何れか一つのアミノ酸配列からなる重鎖定常領域に置換された、請求項33または34記載の製造方法。

【請求項36】

タンパク質非着色体およびタンパク質着色体を含む溶液から、タンパク質非着色体を分離する工程を含む、当該タンパク質非着色体を含む溶液の製造方法であって、

- (1) 当該分離工程が、
 - (i) 当該溶液を陰イオン交換担体カラムに投入し、所定の初期pHを有する平衡化バッファーを使用して、当該タンパク質非着色体およびタンパク質着色体を陰イオン交換担体に結合させる工程、
 - (ii) 当該タンパク質非着色体およびタンパク質着色体が分離されるようあらかじめ定められた条件にて、当該初期pHから終期pHまで下降するpH勾配を形成する溶離バッファーを、所定の流速にて当該陰イオン交換担体カラムに流す工程、および
 - (iii) 前記工程(ii)により溶離するタンパク質非着色体を含む所定の画分を分取する工程からなり、
- (2) 当該タンパク質が、PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖ならびにCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖からなり、(a) PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4および配列番号5から選択される何れか一つのアミノ酸配列からなり、(b) CD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号6のアミノ酸配列からなり、および(c) PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖およびCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖がともに、配列番号7のアミノ酸配列からなる、PD-1およびCD3に各々特異的に結合する二重特異性抗体であり、
- (3) 当該陰イオン交換担体が、Toyopearl(登録商標)NH2-750Fであり、
- (4) 当該平衡化バッファーおよび溶離バッファーの初期pHが約10.6~約8.4の任意のpH値であり、当該溶離バッファーの終期pHが約7.0~約4.0の範囲における任意のpH値(但し、当該初期pHは、当該終期pHよりも2.0以上高い。)であり、
- (5) 当該pH勾配が、(a) 約4~約6 CVの範囲における任意のカラム容量に相当する間隔毎に、当該溶離バッファー中のバッファーBの割合(%)を少なくとも約50~100%の範囲に渡って、約1~約2%の範囲における任意の割合ずつ段階的に増加させることによって実施されるか、(b) 約30~約40 CVの範囲における任意のカラム容量に相当する範囲において、当該溶離バッファー中のpHを、約0.6~約1.0の範囲における任意のpHずつ段階的に低下させることによって行われ、
- (6) 当該溶離バッファーの線流速が、約100~約800 cm/hであり、ならびに
- (7) 分取されたタンパク質非着色体を含む溶液の色濃度が、(i) 第十七改正日本薬局方の一般試験法における項目2.65に記載される色の比較試験法における比較標準溶液BY5との目視による比較試験において、当該BY5と実質的に同じかあるいはそれよりも薄い、もしくは(ii) 分取されたタンパク質非着色体を含む溶液の $E_{m}/UV \times 100$ 値が約6.3以下である、当該製造方法。

【請求項37】

タンパク質非着色体およびタンパク質着色体を含む溶液から、タンパク質非着色体を分離する工程を含む、当該タンパク質非着色体を含む溶液の製造方法であって、

- (1) 当該分離工程が、
 - (i) 当該溶液を陰イオン交換担体カラムに投入する工程、
 - (ii) 当該溶液中の当該タンパク質着色体が当該陰イオン交換担体に結合し、当該タンパク質非着色体が結合しないよう調製された平衡化バッファーを所定の流速にて陰イオン

交換担体カラムに流す工程、および

(i i i) 前記工程 (i i) においてそのままフロースルーするタンパク質非着色体を含む画分を回収する工程からなり、

(2) 当該タンパク質が、PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖ならびにCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖からなり、(a) PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4および配列番号5から選択される何れか一つのアミノ酸配列からなり、(b) CD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号6のアミノ酸配列からなり、および(c) PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖およびCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖がともに、配列番号7のアミノ酸配列からなる、PD-1およびCD3に各々特異的に結合する二重特異性抗体であり、

(3) 当該陰イオン交換担体が、Toyopearl (登録商標) NH2-750Fであり、

(4) 当該平衡化バッファのpHが約7.8~約8.2の範囲における任意のpH値であり、電気伝導度が約5~約7 mS/cmの範囲における任意の電気伝導度であり、

(5) 当該平衡化バッファの線流速が、約100~約400 cm/hであり、ならびに

(6) 分取されたタンパク質非着色体を含む溶液の色濃度が、(i) 第十七改正日本薬局方の一般試験法における項目2.65に記載される色の比較試験法における比較標準溶液BY5との目視による比較試験において、当該BY5と実質的に同じかあるいはそれよりも薄い、または(i i) 分取されたタンパク質非着色体を含む溶液のEm/UV*100値が約6.3以下である、当該製造方法。

【請求項38】

約100~約300 mg/mLの濃度にて、PD-1およびCD3に各々特異的に結合する二重特異性抗体を含む、無色または僅かに着色した溶液であって、

PD-1およびCD3に各々特異的に結合する二重特異性抗体が、PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖ならびにCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖からなり、(a) PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4および配列番号5から選択される何れか一つのアミノ酸配列からなり、(b) CD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号6のアミノ酸配列からなり、および(c) PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖およびCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖がともに、配列番号7のアミノ酸配列からなる、当該溶液。

【請求項39】

当該溶液の色濃度が、(i) 第十七改正日本薬局方の一般試験法における項目2.65に記載される色の比較試験法における比較標準溶液BY5との目視による比較試験において、当該BY5と実質的に同じかあるいはそれよりも薄い、または(i i) 分取されたタンパク質非着色体を含む溶液のEm/UV*100値が約6.3以下である、請求項38記載の溶液。

【請求項40】

約100~約300 mg/mLの濃度にて、PD-1およびCD3に各々特異的に結合する二重特異性抗体を含む、無色または僅かに着色した溶液であって、

PD-1およびCD3に各々特異的に結合する二重特異性抗体が、PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖ならびにCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖からなり、

(a) PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重鎖が、配列番号5のアミノ酸配列からなり、

(b) CD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該重

鎖が、配列番号6のアミノ酸配列からなり、および

(c) PD-1に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖およびCD3に特異的に結合する抗原結合部位を構成する重鎖および軽鎖における当該軽鎖がともに、配列番号7のアミノ酸配列からなり、

当該溶液の色濃度が、(i) 第十七改正日本薬局方の一般試験法における項目2.65に記載される色の比較試験法における比較標準溶液BY5との目視による比較試験において、当該BY5と実質的に同じかあるいはそれよりも薄い、または(ii) 分取されたタンパク質非着色体を含む溶液の $Em/UV * 100$ 値が約6.3以下である、当該溶液。

【請求項41】

着色の低減ないし除去のための何れの分離工程も経ずに、無色または僅かに着色した性状である溶液を除く、請求項38~40の何れか一項記載の溶液。 10

【請求項42】

請求項33~35および40の何れか一項記載のPD-1およびCD3に各々特異的に結合する二重特異性抗体を含み、請求項1~37の何れか一項記載の方法により製造された無色または僅かに着色した溶液。

【請求項43】

請求項38~42の何れか一項記載の溶液を含む医薬組成物。

【請求項44】

自己免疫疾患もしくは移植片対宿主病あるいは血液がんの予防、症状進展抑制、再発抑制および/または治療における、請求項43記載の医薬組成物の使用。 20

30

40

50