

【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 2 年 1 月 30 日 (2020.1.30)

【公表番号】特表 2019-502684 (P2019-502684A)

【公表日】平成 31 年 1 月 31 日 (2019.1.31)

【年通号数】公開・登録公報 2019-004

【出願番号】特願 2018-531122 (P2018-531122)

【国際特許分類】

C 07K 16/00 (2006.01)

C 12P 21/08 (2006.01)

C 07K 16/46 (2006.01)

C 12N 15/13 (2006.01)

C 12N 15/62 (2006.01)

C 12N 15/63 (2006.01)

A 61K 45/00 (2006.01)

A 61K 47/68 (2017.01)

A 61K 39/395 (2006.01)

【F I】

C 07K 16/00 Z N A

C 12P 21/08

C 07K 16/46

C 12N 15/13

C 12N 15/62 Z

C 12N 15/63 Z

A 61K 45/00

A 61K 47/68

A 61K 39/395 L

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 12 月 12 日 (2019.12.12)

【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】

免疫グロブリンおよび機能性物質を含む、結合体化された免疫グロブリンであって、こ
こで、

a) 該免疫グロブリンは、C 末端リジンの後に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を含み、

b) 該機能性物質は、アシル供与体基質を含み、該アシル供与体基質は、グルタミン残
基を含み、

c) 該機能性物質は、治療薬または診断薬であり、

該免疫グロブリンの該 C 末端リジンは、該機能性物質の該アシル供与体基質の該グルタミ
ン残基に結合体化されている、結合体化された免疫グロブリン。

【請求項 2】

免疫グロブリンおよび機能性物質を含む、結合体化された免疫グロブリンであって、こ
こで、

a) 該免疫グロブリンは、C 末端リジンの後に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を含み、

b) 該C末端リジンは、アシル供与体基質上のグルタミン残基に結合体化され、該アシル供与体基質は、反応基をさらに含み、

c) 該反応基は、機能性物質に結合体化され、該機能性物質は、治療薬または診断薬である、

結合体化された免疫グロブリン。

【請求項3】

前記C末端リジンが、前記免疫グロブリンの重鎖上のリジン447(K447)である、請求項1または請求項2に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項4】

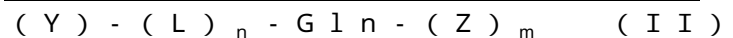
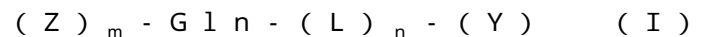
前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後に1つのアミノ酸残基を含み、該C末端リジンの後の該1つのアミノ酸残基は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、セリン、トレオニン、システイン、アスパラギン、グルタミンまたはヒスチジンであるか、または

該C末端リジンの後の該1つのアミノ酸残基は、プロリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジンまたはアルギニンではない、

請求項1または請求項2に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項5】

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式(I)または(II)：



(式中、

Zは、カルボキシルベンジルオキシ(CBZ)基またはアミノ酸残基であり；

Gl_nは、グルタミンアミノ酸残基であり；

各Lは、独立して、1～20個の炭素原子の直鎖または分枝鎖のリンカーであり、ここで、該炭素原子のうちの1つまたは複数は、任意選択でかつ独立して、窒素原子、酸素原子または硫黄原子で置き換えられ得、ここで、各炭素原子および各窒素原子は、任意選択で置換され得るか；または各Lは、任意選択でかつ独立して、アミノ酸残基であり；

mは、0～5の整数であり；

nは、0～5の整数であり；

Yは、機能性物質である)

のうちの1つに記載のものである、請求項1に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項6】

(i) 前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式(I)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；Lは、ポリエチレングリコール部分(PEG)(-O((CH₂)₂)-)、エチルアミン(-NH((CH₂)₂)-)またはプロピルアミン(-NH((CH₂)₃)-)であり；nは、0、1、2、3、4または5であるか；

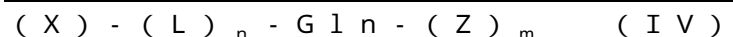
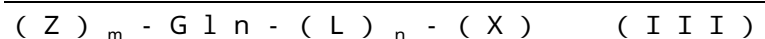
(ii) 前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式(I)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり、Lは、アミノ酸であるか；または

(iii) 前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式(II)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；mは、1であり；nは、1、2または3であり；少なくとも1つのLは、Glyである、

請求項5に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項7】

前記アシル供与体基質が、式(III)または(IV)：



(式中、

Zは、カルボキシルベンジルオキシ(CBZ)基またはアミノ酸残基であり；

Gl_nは、グルタミンアミノ酸残基であり；

各Lは、独立して、1～20個の炭素原子の直鎖または分枝鎖のリンカーであり、ここ

で、該炭素原子のうちの1つまたは複数は、任意選択でかつ独立して、窒素原子、酸素原子または硫黄原子で置き換えられ得、ここで、各炭素原子および各窒素原子は、任意選択で置換され得るか；または各Lは、任意選択でかつ独立して、アミノ酸残基であり；

mは、0～5の整数であり；

nは、0～5の整数であり；

Xは、反応基である）

のうちの1つに記載のものである、請求項2に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項8】

(i) 前記アシル供与体基質が、式(I I I)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；各Lは、独立して、ポリエチレングリコール部分(PEG)(-O((CH₂)₂)-)、エチルアミン(-NH((CH₂)₂)-)またはプロピルアミン(-NH((CH₂)₃)-)であり；nは、0、1、2、3、4または5であるか；

(i i) 前記アシル供与体基質が、式(I I I)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり、Lは、アミノ酸であるか；または

(i i i) 前記アシル供与体基質が、式(I V)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；mは、1であり；nは、1、2または3であり；少なくとも1つのLは、Glyである、

請求項7に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項9】

前記治療薬が、抗体もしくはその抗原結合部分、化学療法剤、薬剤、放射性剤、細胞傷害剤、抗生物質、小分子、核酸またはポリペプチドであるか；または

前記診断薬が、フルオロフォア、蛍光色素、放射性核種または酵素である、

請求項1または請求項2に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項10】

(i) 前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基を含む2つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有するか；または

(i i) 前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の3番目のアミノ酸残基を含む3つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有し、ここで、該C末端リジンの後の該3番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択されるか；または

(i i i) 前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の3番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の4番目のアミノ酸残基を含む4つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有し、ここで、該C末端リジンの後の該4番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択されるか；または

(i v) 前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の3番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の4番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の5番目のアミノ酸残基を含む5つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有し、ここで、該C末端リジンの後の該5番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択されるか；または

(v) 前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後に9つ未満のアミノ酸残基を有し、ここで、該C末端リジンの後の最後のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択されるか；または

(vi) 前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後に13個未満のアミノ酸残基を有し、ここで、該C末端リジンの後の最後のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、
請求項1または請求項2に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項11】

(i) 前記免疫グロブリンが、IgG₁免疫グロブリンであるか；または

(ii) 前記免疫グロブリンが、IgG₂、IgG₃またはIgG₄免疫グロブリンであるか；または

(iii) 前記免疫グロブリンが、IgA₁、IgA₂またはIgM免疫グロブリンであるか；または

(iv) 前記免疫グロブリンが、IgDまたはIgE免疫グロブリンであるか；または

(v) 前記免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリンまたはヒト化免疫グロブリンであるか；または

(vi) 前記免疫グロブリンが、キメラ免疫グロブリンまたは非ヒト免疫グロブリンであるか；または

(vii) 前記免疫グロブリンが、2本の重鎖および2本の軽鎖を含む、
請求項1または請求項2に記載の結合体化された免疫グロブリン。

【請求項12】

請求項1～11のいずれか1項に記載の結合体化された免疫グロブリンをコードする、核酸。

【請求項13】

請求項1～11のいずれか1項に記載の結合体化された免疫グロブリンおよび薬学的に許容され得るキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項14】

請求項1、5および6のいずれか1項に記載の結合体化された免疫グロブリンを作製するための方法であって、該方法は、
微生物トランスグルタミナーゼおよびアシル供与体基質を含む機能性物質とともに、免疫グロブリンをインキュベートする工程であって、

a) 該免疫グロブリンは、C末端リジンの後に少なくとも1つのアミノ酸残基を含み、

b) 該アシル供与体基質は、グルタミン残基を含み、

c) 該機能性物質は、治療薬または診断薬であり、

該微生物トランスグルタミナーゼは、該免疫グロブリンの該C末端リジンを、該機能性物質上の該アシル供与体基質の該グルタミン残基に結合体化させる、工程を含み、それによって、該結合体化された免疫グロブリンを作製する、方法。

【請求項15】

請求項2、7および8のいずれか1項に記載の結合体化された免疫グロブリンを作製するための方法であって、該方法は、

(i) 微生物トランスグルタミナーゼおよびアシル供与体基質とともに免疫グロブリンをインキュベートする工程であって、

a) 該免疫グロブリンは、C末端リジンの後に少なくとも1つのアミノ酸残基を含み、

b) 該アシル供与体基質は、グルタミン残基および反応基を含み、

該微生物トランスグルタミナーゼは、該免疫グロブリンの該C末端リジンを該アシル供与体基質の該グルタミン残基に結合体化させる、工程、および

(i i) 該アシル供与体基質の該反応基に機能性物質を結合体化させる工程であって、ここで、該機能性物質は、治療薬または診断薬である、工程を含み、それによって、該結合体化された免疫グロブリンを作製する、方法。

【請求項 1 6】

前記アシル供与体基質の前記反応基が、クリックケミストリーによって前記機能性物質に結合体化される、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記微生物トランスグルタミナーゼが、*Streptomyces mobarensis* の微生物トランスグルタミナーゼである、請求項 1 4 または請求項 1 5 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 2 1 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 1 9】

当業者は、本発明の好ましい実施形態に対して数多くの変更および改変が行われ得ることおよびそのような変更および改変が本発明の精神から逸脱することなく行われ得ることを十分に理解する。ゆえに、添付の特許請求の範囲は、本発明の真の精神および範囲に含まれるそのような等価なバリエーションのすべてを包含することが意図されている。

例えば、本発明の実施形態の例として、以下の項目が挙げられる。

(項目 1)

結合体化された免疫グロブリンを作製するための方法であって、該方法は、微生物トランスグルタミナーゼおよびアシル供与体基質を含む機能性物質とともに、免疫グロブリンをインキュベートする工程であって、

a) 該免疫グロブリンは、C 末端リジンの後に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を含み、

b) 該アシル供与体基質は、グルタミン残基を含み、

c) 該機能性物質は、治療薬または診断薬であり、

該微生物トランスグルタミナーゼは、該免疫グロブリンの該 C 末端リジンを、該機能性物質上の該アシル供与体基質の該グルタミン残基に結合体化させる、工程を含み、それによって、該結合体化された免疫グロブリンを作製する、方法。

(項目 2)

結合体化された免疫グロブリンを作製するための方法であって、該方法は、

i) 微生物トランスグルタミナーゼおよびアシル供与体基質とともに免疫グロブリンをインキュベートする工程であって、

a) 該免疫グロブリンは、C 末端リジンの後に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を含み、

b) 該アシル供与体基質は、グルタミン残基および反応基を含み、

該微生物トランスグルタミナーゼは、該免疫グロブリンの該 C 末端リジンを該アシル供与体基質の該グルタミン残基に結合体化させる、工程、および

i i) 該アシル供与体基質の該反応基に機能性物質を結合体化させる工程であって、ここで、該機能性物質は、治療薬または診断薬である、工程を含み、それによって、該結合体化された免疫グロブリンを作製する、方法。

(項目 3)

前記アシル供与体基質の前記反応基が、クリックケミストリーによって前記機能性物質に結合体化される、項目 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記 C 末端リジンが、前記免疫グロブリンの重鎖上のリジン 4 4 7 (K 4 4 7) である、項目 1 または項目 2 に記載の方法。

(項目 5)

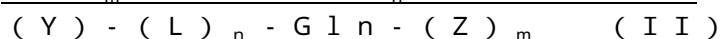
前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後に1つのアミノ酸残基を含み、該C末端リジンの後の該1つのアミノ酸残基は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、セリン、トレオニン、システイン、アスパラギン、グルタミンまたはヒスチジンである、項目1または項目2に記載の方法。

(項目6)

前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後に1つのアミノ酸残基を含み、該C末端リジンの後の該1つのアミノ酸残基は、プロリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジンまたはアルギニンを含まない、項目1または項目2に記載の方法。

(項目7)

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式(I)または(II)：



(式中、

Zは、カルボキシルベンジルオキシ(CBZ)基またはアミノ酸残基であり；

Gl_nは、グルタミンアミノ酸残基であり；

各Lは、独立して、1～20個の炭素原子の直鎖または分枝鎖のリンカーであり、ここで、該炭素原子の1つまたは複数は、任意選択でかつ独立して、窒素原子、酸素原子または硫黄原子で置き換えられ得、ここで、各炭素原子および各窒素原子は、任意選択で置換され得るか；または各Lは、任意選択でかつ独立して、アミノ酸残基であり；

mは、0～5の整数であり；

nは、0～5の整数であり；

Yは、機能性物質である)

のうちの1つに記載のものである、項目1に記載の方法。

(項目8)

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式(I)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；各Lは、独立して、ポリエチレングリコール部分(PEG)(-O((CH₂)₂)-)、エチルアミン(-NH((CH₂)₂)-)またはプロピルアミン(-NH((CH₂)₃)-)であり；nは、0、1、2、3、4または5である、項目7に記載の方法。

(項目9)

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式(I)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり、Lは、アミノ酸である、項目7に記載の方法。

(項目10)

Lが、Glyであり；mが、1であり；nが、0である、項目9に記載の方法。

(項目11)

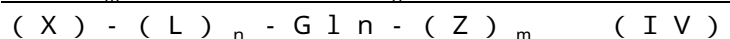
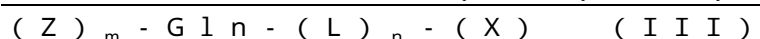
Lが、Glyであり；mが、1であり；nが、1である、項目9に記載の方法。

(項目12)

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式(II)に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；mは、1であり；nは、1、2または3であり；少なくとも1つのLは、Glyである、項目7に記載の方法。

(項目13)

前記アシル供与体基質が、式(III)または(IV)：



(式中、

Zは、カルボキシルベンジルオキシ(CBZ)基またはアミノ酸残基であり；

Gl_nは、グルタミンアミノ酸残基であり；

各Lは、独立して、1～20個の炭素原子の直鎖または分枝鎖のリンカーであり、ここで、該炭素原子のうちの1つまたは複数は、任意選択でかつ独立して、窒素原子、酸素原

子または硫黄原子で置き換えられ得、ここで、各炭素原子および各窒素原子は、任意選択で置換され得るか；または各Lは、任意選択でかつ独立して、アミノ酸残基であり；

mは、0～5の整数であり；

nは、0～5の整数であり；

Xは、反応基である）

のうちの1つに記載のものである、項目2に記載の方法。

（項目14）

前記アシル供与体基質が、式（III）に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；各Lは、独立して、ポリエチレングリコール部分（PEG）（-O（CH₂）₂）_n-）、エチルアミン（-NH（CH₂）₂-）またはプロピルアミン（-NH（CH₂）₃-）であり；nは、0、1、2、3、4または5である、項目13に記載の方法。

（項目15）

前記アシル供与体基質が、式（III）に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり、1つまたは複数のLは、アミノ酸である、項目13に記載の方法。

（項目16）

Lが、Glyであり；mが、1であり；nが、1である、項目15に記載の方法。

（項目17）

mが、1であり；nが、0である、項目15に記載の方法。

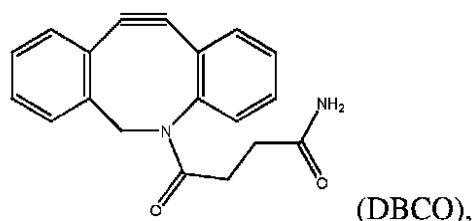
（項目18）

前記アシル供与体基質が、式（IV）に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；mは、1であり；nは、1、2または3であり；少なくとも1つのLは、Glyである、項目13に記載の方法。

（項目19）

Xが、（1R, 8S, 9s）-ピシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメタノール（BCN）、

【化5】



trans-シクロオクテン（TCO）、アジド（N₃）、アルキン、テトラジンメチルシクロプロペン、ノルボルネン、ヒドラジド/ヒドラジンおよびアルデヒドからなる群より選択される反応基である、項目13に記載の方法。

（項目20）

前記治療薬が、抗体もしくはその抗原結合部分、化学療法剤、薬剤、放射性剤、細胞傷害剤、抗生物質、小分子、核酸またはポリペプチドである、項目1または項目2に記載の方法。

（項目21）

前記診断薬が、フルオロフォア、蛍光色素、放射性核種または酵素である、項目1または項目2に記載の方法。

（項目22）

前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基を含む2つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有する、項目1または項目2に記載の方法。

（項目23）

前記C末端リジンの後の前記1番目のアミノ酸残基が、アスパラギン酸、グルタミン酸

またはプロリンを除く任意のアミノ酸残基であり；該C末端リジンの後の前記2番目のアミノ酸残基が、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目22に記載の方法。

(項目24)

前記C末端リジンの後の前記1番目のアミノ酸残基が、リジンまたはアルギニンである、項目23に記載の方法。

(項目25)

前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の3番目のアミノ酸残基を含む3つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有し、ここで、該C末端リジンの後の3番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目1または項目2に記載の方法。

(項目26)

前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の3番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の4番目のアミノ酸残基を含む4つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有し、ここで、該C末端リジンの後の該4番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目1または項目2に記載の方法。

(項目27)

前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の3番目のアミノ酸残基、該C末端リジンの後の4番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の5番目のアミノ酸残基を含む5つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有し、ここで、該C末端リジンの後の該5番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目1または項目2に記載の方法。

(項目28)

前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後に9つ未満のアミノ酸残基を有し、ここで、該C末端リジンの後の最後のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目1または項目2に記載の方法。

(項目29)

前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後に13個未満のアミノ酸残基を有し、ここで、該C末端リジンの後の最後のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目1または項目2に記載の方法。

(項目30)

前記微生物トランスグルタミナーゼが、*Streptomyces mobarens*

i s の微生物トランスグルタミナーゼである、項目 1 または項目 2 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記免疫グロブリンが、I g G₁ 免疫グロブリンである、項目 1 または項目 2 に記載の方法。

(項目 3 2)

前記免疫グロブリンが、I g G₂、I g G₃ または I g G₄ 免疫グロブリンである、項目 1 または項目 2 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記免疫グロブリンが、尾部を含まない、I g A₁、I g A₂ または I g M 免疫グロブリンである、項目 1 または項目 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

前記免疫グロブリンが、I g D または I g E 免疫グロブリンである、項目 1 または項目 2 に記載の方法。

(項目 3 5)

前記免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリンまたはヒト化免疫グロブリンである、前記の項目のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 3 6)

前記免疫グロブリンが、キメラ免疫グロブリンまたは非ヒト免疫グロブリンである、前記の項目のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 3 7)

前記免疫グロブリンが、2 本の重鎖および 2 本の軽鎖を含む、前記の項目のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 3 8)

機能性物質と免疫グロブリンの比が、1 : 1 ~ 2 : 1 である、前記の項目のいずれかに記載の方法。

(項目 3 9)

免疫グロブリンおよび機能性物質を含む、結合体化された免疫グロブリンであって、ここで、

a) 該免疫グロブリンは、C 末端リジンの後に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を含み、

b) 該機能性物質は、アシル供与体基質を含み、該アシル供与体基質は、グルタミン残基を含み、

c) 該機能性物質は、治療薬または診断薬であり、

該免疫グロブリンの該 C 末端リジンは、該機能性物質の該アシル供与体基質の該グルタミン残基に結合体化されている、結合体化された免疫グロブリン。

(項目 4 0)

免疫グロブリンおよび機能性物質を含む、結合体化された免疫グロブリンであって、ここで、

a) 該免疫グロブリンは、C 末端リジンの後に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を含み、

b) 該 C 末端リジンは、アシル供与体基質上のグルタミン残基に結合体化され、該アシル供与体基質は、反応基をさらに含み、

c) 該反応基は、機能性物質に結合体化され、該機能性物質は、治療薬または診断薬である、

結合体化された免疫グロブリン。

(項目 4 1)

前記 C 末端リジンが、前記免疫グロブリンの重鎖上のリジン 4 4 7 (K 4 4 7) である、項目 3 9 または項目 4 0 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 4 2)

前記免疫グロブリンが、前記 C 末端リジンの後に 1 つのアミノ酸残基を含み、該 C 末端リジンの後の該 1 つのアミノ酸残基は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、セリン、トレオニ

ン、システイン、アスパラギン、グルタミンまたはヒスチジンである、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 43)

前記免疫グロブリンが、前記 C 末端リジンの後に 1 つのアミノ酸残基を含み、該 C 末端リジンの後の該 1 つのアミノ酸残基は、プロリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジンまたはアルギニンではない、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 44)

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式 (I) または (II) :

$(Z)_m - Gl_n - (L)_n - (Y) \quad (I)$

$(Y) - (L)_n - Gl_n - (Z)_m \quad (II)$

(式中、

Z は、カルボキシルベンジルオキシ (CBZ) 基またはアミノ酸残基であり ;

Gl_n は、グルタミンアミノ酸残基であり ;

各 L は、独立して、1 ~ 20 個の炭素原子の直鎖または分枝鎖のリンカーであり、ここで、該炭素原子のうちの 1 つまたは複数は、任意選択でかつ独立して、窒素原子、酸素原子または硫黄原子で置き換えられ得、ここで、各炭素原子および各窒素原子は、任意選択で置換され得るか ; または各 L は、任意選択でかつ独立して、アミノ酸残基であり ;

m は、0 ~ 5 の整数であり ;

n は、0 ~ 5 の整数であり ;

Y は、機能性物質である)

のうちの 1 つに記載のものである、項目 39 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 45)

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式 (I) に記載のものであり、式中、Z は、CBZ 基であり ; L は、ポリエチレングリコール部分 (PEG) (- O ((CH₂)₂) -)、エチルアミン (- NH ((CH₂)₂) -) またはプロピルアミン (- NH ((CH₂)₃) -) であり ; n は、0、1、2、3、4 または 5 である、項目 44 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 46)

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式 (I) に記載のものであり、式中、Z は、CBZ 基であり、L は、アミノ酸である、項目 44 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 47)

m が、1 であり ; n が、0 である、項目 46 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 48)

L が、Gly であり ; m が、1 であり ; n が、1 である、項目 46 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 49)

前記アシル供与体基質を含む前記機能性物質が、式 (II) に記載のものであり、式中、Z は、CBZ 基であり ; m は、1 であり ; n は、1、2 または 3 であり ; 少なくとも 1 つの L は、Gly である、項目 44 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 50)

前記アシル供与体基質が、式 (III) または (IV) :

$(Z)_m - Gl_n - (L)_n - (X) \quad (III)$

$(X) - (L)_n - Gl_n - (Z)_m \quad (IV)$

(式中、

Z は、カルボキシルベンジルオキシ (CBZ) 基またはアミノ酸残基であり ;

Gl_n は、グルタミンアミノ酸残基であり ;

各 L は、独立して、1 ~ 20 個の炭素原子の直鎖または分枝鎖のリンカーであり、ここで、該炭素原子のうちの 1 つまたは複数は、任意選択でかつ独立して、窒素原子、酸素原

子または硫黄原子で置き換えられ得、ここで、各炭素原子および各窒素原子は、任意選択で置換され得るか；または各Lは、任意選択でかつ独立して、アミノ酸残基であり；

mは、0～5の整数であり；

nは、0～5の整数であり；

Xは、反応基である）

のうちの1つに記載のものである、項目40に記載の結合体化された免疫グロブリン。

（項目51）

前記アシル供与体基質が、式（III）に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；各Lは、独立して、ポリエチレングリコール部分（PEG）（-O（CH₂）₂）-）、エチルアミン（-NH（CH₂）₂）-）またはプロピルアミン（-NH（CH₂）₃）-）であり；nは、0、1、2、3、4または5である、項目50に記載の結合体化された免疫グロブリン。

（項目52）

前記アシル供与体基質が、式（III）に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり、Lは、アミノ酸である、項目50に記載の結合体化された免疫グロブリン。

（項目53）

mが、1であり；nが、0である、項目52に記載の結合体化された免疫グロブリン。

（項目54）

Lが、Glyであり；mが、1であり；nが、1である、項目52に記載の結合体化された免疫グロブリン。

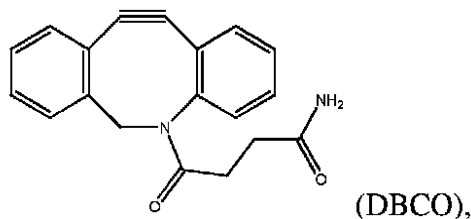
（項目55）

前記アシル供与体基質が、式（IV）に記載のものであり、式中、Zは、CBZ基であり；mは、1であり；nは、1、2または3であり；少なくとも1つのLは、Glyである、項目50に記載の結合体化された免疫グロブリン。

（項目56）

Xが、（1R, 8S, 9s）-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメタノール（BCN）、

【化6】



trans-シクロオクテン（TCO）、アジド（N₃）、アルキン、テトラジンメチルシクロプロペン、ノルボルネン、ヒドラジド/ヒドラジンおよびアルデヒドからなる群より選択される反応基である、項目50に記載の結合体化された免疫グロブリン。

（項目57）

前記治療薬が、抗体もしくはその抗原結合部分、化学療法剤、薬剤、放射性剤、細胞傷害剤、抗生物質、小分子、核酸またはポリペプチドである、項目39または項目40に記載の結合体化された免疫グロブリン。

（項目58）

前記診断薬が、フルオロフォア、蛍光色素、放射性核種または酵素である、項目39または項目40に記載の結合体化された免疫グロブリン。

（項目59）

前記免疫グロブリンが、前記C末端リジンの後の1番目のアミノ酸残基および該C末端リジンの後の2番目のアミノ酸残基を含む2つのアミノ酸残基を該C末端リジンの後に有する、項目39または項目40に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 6 0)

前記 C 末端リジンの後の前記 1 番目のアミノ酸残基が、アスパラギン酸、グルタミン酸またはプロリンを除く任意のアミノ酸残基であり；該 C 末端リジンの後の前記 2 番目のアミノ酸残基が、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目 59 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 6 1)

前記 C 末端リジンの後の前記 1 番目のアミノ酸残基が、リジンまたはアルギニンである、項目 60 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 6 2)

前記免疫グロブリンが、前記 C 末端リジンの後の 1 番目のアミノ酸残基、該 C 末端リジンの後の 2 番目のアミノ酸残基および該 C 末端リジンの後の 3 番目のアミノ酸残基を含む 3 つのアミノ酸残基を該 C 末端リジンの後に有し、ここで、該 C 末端リジンの後の該 3 番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 6 3)

前記免疫グロブリンが、前記 C 末端リジンの後の 1 番目のアミノ酸残基、該 C 末端リジンの後の 2 番目のアミノ酸残基、該 C 末端リジンの後の 3 番目のアミノ酸残基および該 C 末端リジンの後の 4 番目のアミノ酸残基を含む 4 つのアミノ酸残基を該 C 末端リジンの後に有し、ここで、該 C 末端リジンの後の該 4 番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 6 4)

前記免疫グロブリンが、前記 C 末端リジンの後の 1 番目のアミノ酸残基、該 C 末端リジンの後の 2 番目のアミノ酸残基、該 C 末端リジンの後の 3 番目のアミノ酸残基、該 C 末端リジンの後の 4 番目のアミノ酸残基および該 C 末端リジンの後の 5 番目のアミノ酸残基を含む 5 つのアミノ酸残基を該 C 末端リジンの後に有し、ここで、該 C 末端リジンの後の該 5 番目のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 6 5)

前記免疫グロブリンが、前記 C 末端リジンの後に 9 つ未満のアミノ酸残基を有し、ここで、該 C 末端リジンの後の最後のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 6 6)

前記免疫グロブリンが、前記 C 末端リジンの後に 13 個未満のアミノ酸残基を有し、ここで、該 C 末端リジンの後の最後のアミノ酸残基は、フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン、セリン、プロリン、トレオニン、アラニン、チロシン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、

トリプトファンおよびグリシンからなる群より選択される、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 67)

前記免疫グロブリンが、IgG₁ 免疫グロブリンである、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 68)

前記免疫グロブリンが、IgG₂、IgG₃ または IgG₄ 免疫グロブリンである、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 69)

前記免疫グロブリンが、IgA₁、IgA₂ または IgM 免疫グロブリンである、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 70)

前記免疫グロブリンが、IgD または IgE 免疫グロブリンである、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 71)

前記免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリンまたはヒト化免疫グロブリンである、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 72)

前記免疫グロブリンが、キメラ免疫グロブリンまたは非ヒト免疫グロブリンである、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 73)

前記免疫グロブリンが、2 本の重鎖および 2 本の軽鎖を含む、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 74)

前記免疫グロブリンの前記 2 本の重鎖の間に分子内架橋が存在しない、項目 73 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 75)

機能性物質と免疫グロブリンの比が、1 : 1 ~ 2 : 1 である、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 76)

前記機能性物質が、抗体またはその抗原結合部分であり、前記免疫グロブリンおよび該機能性物質は、同じ抗原に結合するか、または異なる抗原に結合する、項目 39 または項目 40 に記載の結合体化された免疫グロブリン。

(項目 77)

項目 39 ~ 76 のいずれか 1 項に記載の結合体化された免疫グロブリンをコードする、核酸。

(項目 78)

項目 77 に記載の核酸を含む、プラスミド。

(項目 79)

項目 78 に記載のプラスミドを含む、単離された細胞。

(項目 80)

項目 39 ~ 76 のいずれか 1 項に記載の結合体化された免疫グロブリンおよび薬学的に許容され得るキャリアを含む、薬学的組成物。

(項目 81)

項目 1 ~ 38 のいずれか 1 項に記載の方法によって作製される、結合体化された免疫グロブリン。