

【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】平成27年2月5日 (2015.2.5)

【公表番号】特表2014-534233(P2014-534233A)

【公表日】平成26年12月18日 (2014.12.18)

【年通号数】公開・登録公報2014-070

【出願番号】特願2014-540611(P2014-540611)

【国際特許分類】

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (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 N 15/02 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/04 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 16/28 Z N A

C 1 2 P 21/08

C 1 2 N 15/00 A

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 1

C 1 2 N 15/00 C

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/04

【手続補正書】

【提出日】平成26年12月9日 (2014.12.9)

【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】

栄養膜細胞表面抗原 - 2 (T r o p - 2) に特異的に結合する単離抗体またはその抗原結合断片であって、

(a) (i) 配列 S Y G V H (配列番号 3 0)、G G S I S S Y (配列番号 3 6)、もしくは G G S I S S Y G V H (配列番号 3 7) を含む重鎖可変 (V H) 領域相補性決定領域 1 (C D R 1)、(i i) 配列 V I W T X ₁ G X ₂ T D Y N S A L M X ₃ (式中、X ₁ は、G もしくは S であり、X ₂ は、S もしくは V であり、X ₃ は、S もしくは G である) (配列番号 4 9)、もしくは W T X ₁ G X ₂ (式中、X ₁ は、G もしくは S であり、X ₂

は、SもしくはVである)(配列番号50)を含むVH CDR2、およびiii)配列DYDRYTX₁DY(式中、X₁はEもしくはMである)(配列番号82)を含むVH CDR3を含むVH領域相補性決定領域、ならびに/または

(b)(i)配列RASKSVSTSX₁YSYMH(式中、X₁は、G、L、もしくはNである)(配列番号63)を含む軽鎖可変領域(VL)CDR1、(ii)配列LASNLES(配列番号55)を含むVL CDR2、および(iii)配列QHSRELPYT(配列番号56)を含むVL CDR3を含むVL領域相補性決定領域を含む、単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項2】

Trop-2に特異的に結合する単離抗体またはその抗原結合断片であって、

配列番号5もしくは85に示したVH配列のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または

配列番号3もしくは6に示したVL配列のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含むVL領域を含む、単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項3】

VH領域が、(i)配列SYGVH(配列番号30)、GGSISSY(配列番号36)、またはGGSISSYGVH(配列番号37)を含むVH CDR1、(ii)配列VIWTS GVT DYN S A L M G(配列番号38)またはWTS G V(配列番号39)を含むVH CDR2、および(iii)配列DGDYDRYTMDY(配列番号35)、DYDRYTMDY(配列番号99)、またはDYDRYTE DY(配列番号100)を含むVH CDR3を含む、請求項2に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項4】

VL領域が、(i)配列RASKSVSTSGYSYMH(配列番号54)またはRASKSVSTSLYSYMH(配列番号57)を含むVL CDR1、(ii)配列LASNLES(配列番号55)を含むVL CDR2、および(iii)配列QHSRELPYT(配列番号56)を含むVL CDR3を含む、請求項3に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項5】

VH領域が、配列番号5、85に示した配列、またはCDR内にない残基中に1つもしくはいくつかの保存的アミノ酸置換を有するバリエーションを含み、かつ/またはVL領域が、配列番号3、6に示したアミノ酸配列、またはCDR内にないアミノ酸中に1つもしくはいくつかのアミノ酸置換を有するそのバリエーションを含む、請求項4に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項6】

配列番号66に示した配列を含む軽鎖、および配列番号65または102に示した配列を含む重鎖を含む、請求項5に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項7】

ATCC受託番号PTA-12872を有する発現ベクターによって生成されるVH領域を含む、請求項3に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項8】

ATCC受託番号PTA-12871を有する発現ベクターによって生成されるVL領域を含む、請求項4に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項9】

表面プラズモン共鳴によって測定して約6.5 nM以下の一価抗体結合親和性(K_D)でヒトTrop-2(配列番号27)のドメイン3およびドメイン4に特異的に結合する単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項10】

Trop-2に特異的に結合する単離抗体またはその抗原結合断片であって、

(a)(i)配列SYWIN(配列番号40)、GYTFTSY(配列番号41)、も

しくはGYTF TSYWIN (配列番号42)を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列NIX₁PSDSYSNYNX₂KFKD(式中、X₁は、YもしくはFであり、X₂は、QもしくはKである)(配列番号51)、もしくはX₁PSDSY(式中、X₁は、YもしくはFである)(配列番号52)を含むVH CDR2、およびiii)配列GSX₁FDY(式中、X₁は、SもしくはGである)(配列番号53)を含むVH CDR3を含むVH領域相補性決定領域、ならびに/または

(b)(i)配列RASQTIGTSH(配列番号59)を含む軽鎖可変領域(VL)CDR1、(ii)配列YASESIS(配列番号60)を含むVL CDR2、および(iii)配列X₁QSX₂SWPFT(X₁は、QもしくはSであり、X₂は、NもしくはFである)(配列番号64)を含むVL CDR3を含むVL領域相補性決定領域を含む、単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項11】

Trop-2に特異的に結合する単離抗体またはその抗原結合断片であって、配列番号13に示したVH配列のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または

配列番号12に示したVL配列のVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含むVL領域

を含む、単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項12】

VH領域が、(i)配列SYWIN(配列番号40)、GYTF TSY(配列番号41)、またはGYTF TSYWIN(配列番号42)を含むVH CDR1、(ii)配列NIFPSDSYSNYNKKFKD(配列番号46)またはFPSDSY(配列番号47)を含むVH CDR2、および(iii)配列SGGF DY(配列番号48)を含むVH CDR3を含む、請求項11に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項13】

VL領域が、(i)配列RASQTIGTSH(配列番号59)を含むVL CDR1、(ii)配列YASESIS(配列番号60)を含むVL CDR2、および(iii)配列SQSF SWPFT(配列番号62)を含むVL CDR3を含む、請求項12に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項14】

VH領域が、配列番号13に示した配列、またはCDR内にない残基中に1つもしくはいくつかの保守的アミノ酸置換を有するバリエーションを含み、かつ/またはVL領域が、配列番号12に示したアミノ酸配列、またはCDR内にないアミノ酸中に1つもしくはいくつかのアミノ酸置換を有するそのバリエーションを含む、請求項13に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項15】

配列番号68に示した配列を含む軽鎖、および配列番号67に示した配列を含む重鎖を含む、請求項14に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項16】

Trop-2に特異的に結合し、請求項2または4に記載の抗体と競合する単離抗体。

【請求項17】

表面プラズモン共鳴によって測定して、約6.5 nM以下の一価抗体結合親和性(K_D)を有する、請求項16に記載の抗体。

【請求項18】

特定の部位で遺伝子工学的に改変されたアシルドナーグルタミン含有タグを含む、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項19】

タグが、アミノ酸配列GGL LQG G(配列番号78)、LLQGA(配列番号79)、またはLLQを含む、請求項18に記載の抗体。

【請求項20】

２２２位、３４０位、または３７０位でアミノ酸修飾をさらに含む、請求項１９に記載の抗体。

【請求項２１】

アミノ酸修飾が、リシンからアルギニンへの置換である、請求項２０に記載の抗体。

【請求項２２】

請求項１から１５および１８から２１のいずれか一項に記載の、抗体または抗原結合断片のコンジュゲートであって、抗体または抗原結合断片が、細胞毒性剤、免疫調節剤、造影剤、治療用タンパク質、バイオポリマー、およびオリゴヌクレオチドからなる群から選択される作用物質にコンジュゲートしている、コンジュゲート。

【請求項２３】

作用物質が細胞毒性剤である、請求項２２に記載のコンジュゲート。

【請求項２４】

細胞毒性剤が、MMAD（モノメチルオーリスチンＤ）、または０１０１（２－メチルアラニル－Ｎ－〔（３Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－３－メトキシ－１－〔（２Ｓ）－２－〔（１Ｒ，２Ｒ）－１－メトキシ－２－メチル－３－オキソ－３－〔〔（１Ｓ）－２－フェニル－１－（１，３－チアゾール－２－イル）エチル〕アミノ〕プロピル〕ピロリジン－１－イル〕－５－メチル－１－オキソヘプタン－４－イル〕－Ｎ－メチル－Ｌ－バリンアミド）である、請求項２３に記載のコンジュゲート。

【請求項２５】

式：抗体－（アシルドナーグルタミン含有タグ）－（リンカー）－（細胞毒性剤）を有する、請求項２４に記載のコンジュゲート。

【請求項２６】

アシルドナーグルタミン含有タグが、アミノ酸配列GGLLQGG（配列番号７８）、LLQGA（配列番号７９）、LLQ、またはLLQX₁X₂X₃X₄X₅（式中、X₁は、GもしくはPであり、X₂は、A、G、Pであるかもしくは存在せず、X₃は、A、G、K、Pであるかもしくは存在せず、X₄は、G、Kであるかもしくは存在せず、X₅は、Kであるかもしくは存在しない）（配列番号８８）を含み、リンカーが、アセチル－リシン－バリン－シトルリン－p－アミノベンジルオキシカルボニル、またはアミノ－PEG6－プロピオニルを含む、請求項２５に記載のコンジュゲート。

【請求項２７】

１）抗体－LLQGA（配列番号７９）－（アセチル－リシン－バリン－シトルリン－p－アミノベンジルオキシカルボニル（Aclys-VC-PABC））－０１０１、２）抗体－LLQGA（配列番号７９）－（Aclys-VC-PABC）－MMAD、３）抗体－LLQX₁X₂X₃X₄X₅（配列番号８８）－（Aclys-VC-PABC）－０１０１、４）抗体－LLQX₁X₂X₃X₄X₅（配列番号８８）－（Aclys-VC-PABC）－MMAD、５）抗体－GGLLQGG（配列番号７８）－（Aclys-VC-PABC）－０１０１、および６）抗体－GGLLQGG（配列番号７８）－（Aclys-VC-PABC）－MMADからなる群から選択される、請求項２６に記載のコンジュゲート。

【請求項２８】

コンジュゲート１）抗体－GGLLQGG（配列番号７８）－（Aclys-VC-PABC）－０１０１、２）抗体－GGLLQGG（配列番号７８）－（Aclys-VC-PABC）－MMAD、３）抗体－LLQX₁X₂X₃X₄X₅（配列番号８８）－（Aclys-VC-PABC）－０１０１、４）抗体－LLQX₁X₂X₃X₄X₅（配列番号８８）－（Aclys-VC-PABC）－MMAD、５）抗体－LLQGA（配列番号７９）－（Aclys-VC-PABC）－０１０１、または６）抗体－LLQGA（配列番号７９）－Aclys-VC-PABC－MMADが、該抗体の２２２位でリシンからアルギニンへのアミノ酸置換を含む、請求項２７に記載のコンジュゲート。

【請求項２９】

コンジュゲートが、１）抗体－LLQGA（配列番号７９）－（Aclys-VC-P

A B C) - 0 1 0 1、2) 抗体 - L L Q G A (配列番号 7 9) - A c L y s - V C - P A B C - M M A D、3) 抗体 - L L Q X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ (配列番号 8 8) - (A c L y s - V C - P A B C) - 0 1 0 1、または4) 抗体 - L L Q X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ (配列番号 8 8) - (A c L y s - V C - P A B C) - M M A Dであって、かつ、抗体の重鎖の C 末端におけるアミノ酸リシンが欠失している、請求項 2 7 に記載のコンジュゲート。

【請求項 3 0】

前記抗体の N 2 9 7 Q 位および K 2 2 2 R 位におけるアミノ酸置換、アミノ - P E G 6 - プロピオニルを含むリンカー、ならびに M M A D を含む細胞毒性剤を含む、請求項 2 4 に記載のコンジュゲート。

【請求項 3 1】

コンジュゲートが、抗体 - L L Q G A (配列番号 7 9) - (A c L y s - V C - P A B C) - 0 1 0 1 であって、該抗体の 2 2 2 位でリシンからアルギニンへのアミノ酸置換を含み、該抗体の重鎖の C 末端におけるアミノ酸リシンが欠失している、請求項 2 4 に記載のコンジュゲート。

【請求項 3 2】

治療有効量の請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の抗体または請求項 2 2 から 3 1 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、および薬学的に許容できる担体を含む医薬組成物。

【請求項 3 3】

請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を含む単離ポリヌクレオチド。

【請求項 3 4】

請求項 3 3 に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 3 5】

請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の抗体を組換え産生する単離宿主細胞。

【請求項 3 6】

抗体を生成する方法であって、抗体の産生をもたらす条件下で請求項 3 5 に記載の宿主細胞を培養するステップと、宿主細胞または培養物から抗体を単離するステップとを含む、方法。

【請求項 3 7】

対象における T r o p - 2 発現に関連する状態を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の請求項 3 2 に記載の医薬組成物を投与するステップを含む、方法。

【請求項 3 8】

状態ががんである、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

がんが、膀胱、乳房、子宮頸部、絨毛癌、大腸、食道、胃、グリア芽細胞腫、頭頸部、腎臓、肺、口腔、卵巣、膵臓、前立腺、および皮膚のがんからなる群から選択される、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

T r o p - 2 発現腫瘍を有する対象における腫瘍増殖または進行を阻害する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の請求項 3 2 に記載の医薬組成物を投与するステップを含む、方法。

【請求項 4 1】

対象における T r o p - 2 発現がん細胞の転移を阻害する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の請求項 3 2 に記載の医薬組成物を投与するステップを含む、方法。

【請求項 4 2】

T r o p - 2 発現腫瘍を有する対象における腫瘍退縮を誘導する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の請求項 3 2 に記載の医薬組成物を投与するステップを含む、方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】図面
 【補正対象項目名】図 4
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【図 4】

図 4

```

1                                     50
hTrop1 (1) MA-----PPQVLAFGLLEAAATATFAAAQEECVCEENYK AVNCFVNNN
hTrop2 (1) MARGPGLAPPPLRLPLLLLVLA AVTGHTAAQENCTCPTNKMTVCSPDGPG
コンセンサス (1) PP L LLL AA AAQD C C KL V
51                                     100
hTrop1 (44) RQCOCTSTVGAQNTVICSKLA-KCLV-KAEMNCSKLCRRAK-F-EGALQNN
hTrop2 (51) GRCQCRALGSGMAVDCSTLTCKCLLLKARMSAPKNARTLVRESEHALVDN
コンセンサス (51) CQC ALGA V CS L AKCLLLKA M A K AR P E AL N
101                                     150
hTrop1 (92) DGLYDPDCDESGLEKFA-QCNGISTCWCVN-AGVRRTEK-DTE-TCSEVRN
hTrop2 (101) DGLYDPDCDPESGREKA-QCNOTSVCWCVN-VGVRRTDKGDLSCDEDELVR
コンセンサス (101) DGLYDPDCD G FKAQCN TS CWCVNS GVRRTDK D I C E VR
151                                     200
hTrop1 (141) TWI I LKH AREKP DSKSLRTALO-EITTRYQLDPKE-TILYENNV
hTrop2 (151) THH I LKH PTAGA-NHSDLDALRL-LFREPYRLHPKEVA-VHYEPT
コンセンサス (151) TH IIIDLKHK F L L K RY L PKFI AI YEN
201                                     250
hTrop1 (191) ITIELVONSOKTQNDVDLADVAYFFE-DVKGESLFHS-K-MDETVNGEQ
hTrop2 (201) IQIELRONISOKAAGDVDLDAAYFFE-D-KGESLFQGGGLDERVRGE-
コンセンサス (201) I IDL QNSSQK DVDIAD AYYFEKDIKGESLF K LDL V GE
251                                     300
hTrop1 (240) LDIDPGOTLIYY-DEKAREFSMOGLKAGVIAVIVVVV-A-VAG-VVLVT
hTrop2 (250) -PIQVERTLIYY-DEIPPKFSMKRLTAG-IAVIVVVV-A-VAG-MAVLVT
コンセンサス (251) L TLIYYLDE P FSM L AGLIAVIVVVVIALVAGI VLVIS
301                                     325
hTrop1 (290) RKKMAKYEKARIKE-GEHPFLNA
hTrop2 (299) NKKSKYKKVEIKE-GERKEPSL
コンセンサス (301) KKK AKY K EIKELGEL KE

```

————— ドメイン 1 ドメイン 2
 — — — ドメイン 3 — . . — ドメイン 4

【手続補正 3】
 【補正対象書類名】図面
 【補正対象項目名】図 5
 【補正方法】変更
 【補正の内容】

【 図 5 】

図5

```

1                                     50
hTrop2 (1) MARGPGLAPPPLRLPLLLL LAAVTGHTAAQDNCTCPTNKMTVCSPDGGG
mTrop2 (1) MARGLDLAP----- LLLL LAMATRFCTAQSNTCPTNKMTVCDTNGPG
コンセンサス (51) MARG LAP LLLLLLA T AQ NCTCPTNKMTVC GPG
51                                     100
hTrop2 (51) GRCQCRA GSG AVDCSTLTISKCLLLKARMSAPKN R LVLPSEHA VDN
mTrop2 (45) GVCQCRA GSG LVDCSTLTISKCLLLKARMSARKS R LVMPSEHA I DN
コンセンサス (51) G CQCRA LGS M VDCSTLTISKCLLLKARMSA K ARSLV PSEHA I LDN
101                                     150
hTrop2 (101) DGLYDF CDPEGRFKARQCNOTSVCWCVN SVGVRR TDKGD SLRCDELVR
mTrop2 (95) DGLYDF CDDKGRFKARQCNOTSVCWCVN SVGVRR TDKGDQSLRCDELVR
コンセンサス (101) DGLYDFDCD GRFKARQCNOTSVCWCVN SVGVRR TDKGD SLRCDELVR
151                                     200
hTrop2 (151) THHILL LRRPPTAGAFNHSDDL ELRLERERY LHPKF AVHYEPT
mTrop2 (145) THHILL LRRPPTDRAFNHSDDL ELRLRFOERY LHPSE SAVHYEPT
コンセンサス (151) THHILIDLRRPPT AFNHSDDLAE LRLRF ERYKLHP FLAAVHYE PT
201                                     250
hTrop2 (201) IQIELRONT SOK AGDVDT DAAYYFERDIKGESLFGRRGLD RVRGEP
mTrop2 (195) IQIELRONASOK LRDVDI DAAYYFERDIKGESLFMGRGLD QVRGEP
コンセンサス (201) IQIELRON SOKA DVDIADAAYYFERDIKGESLF GR GLDL VRGEP
251                                     300
hTrop2 (251) LQVERTLIYYLDEIPPKFSMKRLTAG IAVIVVVVVALVAG AVLVTNR
mTrop2 (245) LHVERTLIYYLDEKPPQFSMKRLTAG IAVIAVVSVA VAG VVLVTKR
コンセンサス (251) L VERTLIYYLDE PP FSMKRLTAGLIAVI VV VALVAGM VLVIT R
301                                     323
hTrop2 (301) RKSGKYKKVE KELGE RKEPSL
mTrop2 (295) RKSGKYKKVE KELGE RSEPSL
コンセンサス (301) RKSGKYKKVEIKELGELR EPSL

```

————— ドメイン 1 ドメイン 2
 — — — ドメイン 3 — . . — ドメイン 4