

【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28年11月24日(2016.11.24)

【公表番号】特表2015-532102(P2015-532102A)

【公表日】平成27年11月9日(2015.11.9)

【年通号数】公開・登録公報2015-069

【出願番号】特願2015-535813(P2015-535813)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)
C 1 2 N	1/11	(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)
A 6 1 K	38/48	(2006.01)
A 6 1 K	47/42	(2006.01)
A 6 1 K	47/48	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 0 7 K	19/00	
C 1 2 P	21/02	C
C 1 2 N	1/11	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 2
A 6 1 K	37/547	
A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 K	39/395	C
A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	

【手続補正書】

【提出日】平成28年10月4日(2016.10.4)

【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】

配列番号1と少なくとも85%同一なグランザイムB(GRB)コード配列を含む組換

えポリペプチドであって、前記 G r B コード配列が、C y s に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失および以下の特徴：

- (a) A s p 3 7 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (b) A s n 5 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (c) A s n 8 4 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (d) A r g 9 6 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (e) A r g 1 0 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (f) A r g 1 0 2 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (g) A s p 1 5 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (h) A r g 2 0 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (i) L y s 2 2 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (j) L y s 2 2 2 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (k) L y s 2 2 5 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；または
- (l) A r g 2 2 6 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失

の 1 つまたは複数を含む、組換えポリペプチド。

【請求項 2】

C y s を含む追加的なアミノ酸配列をさらに含み、前記アミノ酸配列が前記 G r B コード配列に対して C 末端側に位置する、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 3】

前記追加的なアミノ酸が、前記 G r B コード配列に対して C 末端側に位置する配列 S S C S G S A (配列番号 1 2) を含む、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 4】

前記 G r B コード配列が、前記特徴のうちの 2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つを含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 5】

A s p 3 7 または A s p 1 5 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換または欠失を含む、請求項 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

A s n 5 1 または A s n 8 4 に対応する位置におけるアミノ酸置換または欠失を含む、請求項 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 7】

A r g 9 6 、 A r g 1 0 0 、 A r g 1 0 2 、 A r g 2 0 1 または A r g 2 2 6 に対応する位置におけるアミノ酸置換または欠失を含む、請求項 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 8】

L y s 2 2 1 、 L y s 2 2 2 または L y s 2 2 5 に対応する位置におけるアミノ酸置換または欠失を含む、請求項 4 に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

C y s 2 1 0 に対応する位置における A l a 置換を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

細胞結合性部分と結合体化または融合している、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 11】

前記細胞結合性部分とチオエステル連結によって結合体化している、請求項 10 に記載のポリペプチド。

【請求項 12】

前記 G r B コード配列に対して C 末端側に位置する細胞結合性部分を含む追加的なアミノ酸配列と融合している、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 13】

前記細胞結合性部分が V E G F 、 B L y S 、抗体または前述のいずれかの細胞結合性部分である、請求項 10 に記載のポリペプチド。

【請求項 14】

前記抗体が、モノクローナル、キメラ抗体、F_ab'、F_ab、F(a b')₂、単一ドメイン抗体、Fv、または単鎖Fv(scfv)抗体である、請求項13に記載のポリペプチド。

【請求項 15】

前記抗体がヒト抗体、ヒト化抗体または脱免疫化抗体である、請求項13に記載のポリペプチド。

【請求項 16】

前記抗体が、15A8抗体、ZME-018抗体、ScFvMEL抗体、セツキシマブ抗体またはトラスツズマブ抗体である、請求項13に記載のポリペプチド。

【請求項 17】

前記細胞結合性部分ががん細胞において発現されるタンパク質、炭水化物または脂質に結合する、請求項10に記載のポリペプチド。

【請求項 18】

前記細胞結合性部分が、GP240、5T4、HER1、HER2、CD-33、CD-38、flt1、Flk-1、CEA、FGFR3、IGFBP2またはIGF-1Rに結合する、請求項10に記載のポリペプチド。

【請求項 19】

前記ポリペプチドまたは前記細胞結合性部分が画像化剤とさらに結合体化している、請求項10に記載のポリペプチド。

【請求項 20】

請求項1に記載のGrBポリペプチドを薬学的に許容される担体中に含む組成物。

【請求項 21】

前記GrBコード配列が、配列番号1と少なくとも90%同一である、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 22】

前記GrBコード配列が、配列番号1と少なくとも95%同一である、請求項21に記載のポリペプチド。

【請求項 23】

前記GrBコード配列が、Lys27および/またはArg28に対応する位置におけるアミノ酸置換または欠失をさらに含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 24】

前記GrBコード配列が、アミノ酸置換K27Eおよび/またはR28Aを含む、請求項23に記載のポリペプチド。

【請求項 25】

N末端にIIGG、IVGGまたはILGGを有する短縮型セリンプロテアーゼと融合した、選択されたプロテアーゼによる切断を受けやすい切断部位を含む組換えポリペプチドであって、前記選択されたプロテアーゼによる前記ポリペプチドの切断の際に、N末端にイソロイシンを有する前記短縮型セリンプロテアーゼが前記ポリペプチドから放出される、組換えポリペプチド。

【請求項 26】

前記プロテアーゼ切断部位がカスパーゼ切断配列である、請求項25に記載のポリペプチド。

【請求項 27】

前記プロテアーゼ切断配列がカスパーゼ-3切断配列である、請求項26に記載のポリペプチド。

【請求項 28】

前記切断部位に対してN末端側に位置する細胞結合性部分をさらに含む、請求項25に記載のポリペプチド。

【請求項 29】

前記細胞結合性部分が、H E R 2に結合する、請求項2 8に記載のポリペプチド。

【請求項 3 0】

前記細胞結合性部分が、V E G F、B L y S、抗体または前述のいずれかの細胞結合性部分である、請求項2 8に記載のポリペプチド。

【請求項 3 1】

前記細胞結合性部分が抗体重鎖または抗体軽鎖である、請求項3 0に記載のポリペプチド。

【請求項 3 2】

前記抗体重鎖または前記抗体軽鎖がヒト Ig G 抗体重鎖またはヒト Ig G 抗体軽鎖である、請求項3 1に記載のポリペプチド。

【請求項 3 3】

前記セリンプロテアーゼがグランザイムである、請求項2 5に記載のポリペプチド。

【請求項 3 4】

前記グランザイムが、配列番号 1 と少なくとも 80 % 同一のグランザイム B (G r B) である、請求項3 3に記載のポリペプチド。

【請求項 3 5】

前記選択されたプロテアーゼにより切断された際に生じる前記 G r B ポリペプチドがアミノ末端に配列 I I G G H E A K (配列番号 2 7) を含む、請求項3 4に記載のポリペプチド。

【請求項 3 6】

配列 Y V D E V D I I G G H E A K (配列番号 2 6) ; R V R R I I G G H E A K (配列番号 2 9) ; R V R R I I G G H E A K (配列番号 3 0) ; (I / A) (E / D) G R I I G G H E A K (配列番号 3 1) ; Y E V D I I G G H E A K (配列番号 3 2) ; W E H D I I G G H E A K (配列番号 3 3) ; D V A D I I G G H E A K (配列番号 3 4) ; D E H D I I G G H E A K (配列番号 3 5) ; D E V D I I G G H E A K (配列番号 3 6) ; D M Q D I I G G H E A K (配列番号 3 7) ; L E V D I I G G H E A K (配列番号 3 8) ; L E H D I I G G H E A K (配列番号 3 9) ; V E I D I I G G H E A K (配列番号 4 0) ; V E H D I I G G H E A K (配列番号 4 1) ; I E T D I I G G H E A K (配列番号 4 2) ; L E T D I I G G H E A K (配列番号 4 3) または I E A D I I G G H E A K (配列番号 4 4) を含む、請求項3 5に記載のポリペプチド。

【請求項 3 7】

配列 Y V D E V D I I G G H E A K (配列番号 2 6) を含む、請求項3 6に記載のポリペプチド。

【請求項 3 8】

細胞透過性ペプチド (C P P) をさらに含む、請求項2 5に記載のポリペプチド。

【請求項 3 9】

前記短縮型セリンプロテアーゼが、グランザイム B 、グランザイム A 、グランザイム H 、グランザイム K 、グランザイム M 、カテプシン G 、キマーゼ、ミエロプラスチン、カリクレイン - 1 4 、補体因子 D 、 P R S S 3 タンパク質、トリプシン - 1 、セリンプロテアーゼ 5 7 および P R S S L 1 からなる群から選択される、請求項 2 5 に記載のポリペプチド。

【請求項 4 0】

前記短縮型セリンプロテアーゼが、N 末端に配列 I I G G を有する、請求項 2 5 に記載のポリペプチド。

【請求項 4 1】

前記プロテアーゼ切断部位が、哺乳動物の細胞内プロテアーゼによって切断を受けやすい切断部位である、請求項 2 5 に記載のポリペプチド。

【請求項 4 2】

請求項2 5に記載のポリペプチドを薬学的に許容される担体中に含む組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

N末端に IIGG、IVGGまたはILGGを有する短縮型セリンプロテアーゼと融合した、選択されたプロテアーゼによる切断を受けやすい切断部位を含む組換えポリペプチドであって、前記選択されたプロテアーゼによる前記ポリペプチドの切断の際に、N末端にイソロイシンを有する前記短縮型セリンプロテアーゼが前記ポリペプチドから放出される、組換えポリペプチド。

(項目2)

前記プロテアーゼ切断部位がカスパーゼ切断配列、フューリン切断配列、グランザイムB切断配列または第Xa因子切断配列である、項目1に記載のポリペプチド。

(項目3)

前記プロテアーゼ切断配列がカスパーゼ-3切断配列である、項目2に記載のポリペプチド。

(項目4)

前記切断部位に対してN末端側に位置する細胞結合性部分をさらに含む、項目1に記載のポリペプチド。

(項目5)

前記細胞結合性部分が、GP240、5T4、HER1、HER2、CD-33、CD-38、VEGFR-1、VEGFR-2、CEA、FGFR3、IGFBP2、Fn14またはIGF-1Rに結合する、項目4に記載のポリペプチド。

(項目6)

前記細胞結合性部分が、VEGF、BLyS、抗体または前述のいずれかの細胞結合性部分である、項目4に記載のポリペプチド。

(項目7)

前記細胞結合性部分が抗体重鎖または抗体軽鎖である、項目6に記載のポリペプチド。

(項目8)

前記抗体重鎖または前記抗体軽鎖がヒトIgG抗体重鎖またはヒトIgG抗体軽鎖である、項目7に記載のポリペプチド。

(項目9)

前記セリンプロテアーゼがグランザイムである、項目1に記載のポリペプチド。

(項目10)

前記グランザイムが、配列番号1と少なくとも80%同一のグランザイムB(GrB)である、項目9に記載のポリペプチド。

(項目11)

前記選択されたプロテアーゼにより切断された際に生じる前記GrBポリペプチドがアミノ末端に配列IIGGHEAK(配列番号27)を含む、項目10に記載のポリペプチド。

(項目12)

配列YVDEVDIIGGHEAK(配列番号26)；RVRRIIGGHEAK(配列番号29)；RVRRRIIGGHEAK(配列番号30)；(I/A)(E/D)GRIGGHEAK(配列番号31)；YEVDIIGGHEAK(配列番号32)；WEHDIIIGGHEAK(配列番号33)；DVADIIGGHEAK(配列番号34)；DEHDIIIGGHEAK(配列番号35)；DEVDIIGGHEAK(配列番号36)；DMQDIIIGGHEAK(配列番号37)；LEVVDIIGGHEAK(配列番号38)；

38) ; L E H D I I G G H E A K (配列番号39) ; V E I D I I G G H E A K (配列番号40) ; V E H D I I G G H E A K (配列番号41) ; I E T D I I G G H E A K (配列番号42) ; L E T D I I G G H E A K (配列番号43) または I E A D I I G G H E A K (配列番号44) を含む、項目11に記載のポリペプチド。

(項目13)

配列 Y V D E V D I I G G H E A K (配列番号26) を含む、項目12に記載のポリペプチド。

(項目14)

細胞透過性ペプチド (CPP) をさらに含む、項目1に記載のポリペプチド。

(項目15)

前記GrBコード配列が、以下の特徴：

- (a) A s p 3 7 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (b) A s n 5 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (c) A s n 8 4 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (d) A r g 9 6 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (e) A r g 1 0 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (f) A r g 1 0 2 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (g) A s p 1 5 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (h) A r g 2 0 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (i) C y s 2 1 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (j) L y s 2 2 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (k) L y s 2 2 2 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (l) L y s 2 2 5 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；または
- (m) A r g 2 2 6 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失

の1つまたは複数を含む、項目10に記載のポリペプチド。

(項目16)

前記GrBコード配列が、L y s 2 7 および A r g 2 8 に対応する位置におけるアミノ酸置換を含む、項目10に記載のポリペプチド。

(項目17)

L y s 2 7 および A r g 2 8 に対応する位置における前記アミノ酸置換が K 2 7 E または K 2 7 L および R 2 8 A である、項目16に記載のポリペプチド。

(項目18)

前記GrBコード配列が、⁸2 P K N ⁸4 に対応する位置において置換された配列 P V P N を含む、項目10に記載のポリペプチド。

(項目19)

ヒト抗体重鎖およびヒト抗体軽鎖を含む抗体標的化部分であって、前記抗体軽鎖、前記抗体重鎖またはその両方が、前記抗体軽鎖および/または前記抗体重鎖に対してC末端側に位置する短縮型セリンプロテアーゼを含む、抗体標的化部分。

(項目20)

前記短縮型セリンプロテアーゼが、項目10から18までのいずれか一項に記載のGrBポリペプチドである、項目19に記載の抗体標的化剤。

(項目21)

前記抗体がヒトIgGである、項目19に記載の抗体標的化剤。

(項目22)

前記抗体がヒトIgG1である、項目21に記載の抗体標的化剤。

(項目23)

血清安定性のあるGrBポリペプチドを提供する方法であって、項目10から18までのいずれか一項に記載の組換えポリペプチドを得るステップを含む、方法。

(項目24)

配列番号1と少なくとも80%同一なグランザイムB (GrB) コード配列を含む組換

えポリペプチドであって、前記 G r B コード配列が、以下の特徴：

- (a) A s p 3 7 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (b) A s n 5 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (c) A s n 8 4 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (d) A r g 9 6 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (e) A r g 1 0 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (f) A r g 1 0 2 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (g) A s p 1 5 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (h) A r g 2 0 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (i) C y s 2 1 0 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (j) L y s 2 2 1 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (k) L y s 2 2 2 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；
- (l) L y s 2 2 5 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失；または
- (m) A r g 2 2 6 に対応する位置におけるアミノ酸置換もしくは欠失

の1つまたは複数を含む、組換えポリペプチド。

(項目 2 5)

C y s を含むアミノ酸配列をさらに含み、前記アミノ酸配列が前記 G r B コード配列に對して C 末端側に位置する、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 2 6)

前記 G r B コード配列に對して C 末端側に位置する配列 S S C S G S A (配列番号 1 2) をさらに含む、項目 2 5 に記載のポリペプチド。

(項目 2 7)

前記 G r B コード配列が、前記特徴のうちの 2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つを含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 2 8)

A s p 3 7 に対応する位置に極性側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 2 9)

A s p 3 7 に対応する位置における A s n 置換を含む、項目 2 8 に記載のポリペプチド。

。

(項目 3 0)

A s p 1 5 0 に対応する位置に極性側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 3 1)

A s p 1 5 0 に対応する位置における A s n 置換を含む、項目 3 0 に記載のポリペプチド。

(項目 3 2)

A s n 5 1 に対応する位置における A l a または S e r 置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 3 3)

A s n 8 4 に対応する位置における A l a または S e r 置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 3 4)

C y s 2 1 0 に対応する位置における A l a 置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 3 5)

A r g 9 6 に対応する位置に極性または正に荷電した側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 3 6)

A r g 1 0 0 に対応する位置に極性または正に荷電した側鎖を有する残基のアミノ酸置

換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 3 7)

Arg 102 に対応する位置に極性または正に荷電した側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 3 8)

Arg 201 に対応する位置に極性または正に荷電した側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 3 9)

Lys 221 に対応する位置に極性または正に荷電した側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 4 0)

Lys 222 に対応する位置に極性または正に荷電した側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 4 1)

Lys 225 に対応する位置に極性または正に荷電した側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 4 2)

Arg 226 に対応する位置に極性または正に荷電した側鎖を有する残基のアミノ酸置換を含む、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 4 3)

細胞結合性部分と結合体化または融合している、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 4 4)

前記細胞結合性部分とチオエステル連結によって結合体化している、項目 4 3 に記載のポリペプチド。

(項目 4 5)

前記 GrB コード配列に対して C 末端側に位置する細胞結合性部分と融合している、項目 2 4 に記載のポリペプチド。

(項目 4 6)

前記細胞結合性部分が VEGF 、 BLYS 、抗体または前述のいずれかの細胞結合性部分である、項目 4 3 に記載のポリペプチド。

(項目 4 7)

前記抗体が、モノクローナル、キメラ抗体、Fab' 、 Fab 、 F(ab')2 、 单一ドメイン抗体、 Fv 、または单鎖 Fv (scFv) 抗体である、項目 4 6 に記載のポリペプチド。

(項目 4 8)

前記抗体がヒト抗体、ヒト化抗体または脱免疫化抗体である、項目 4 6 に記載のポリペプチド。

(項目 4 9)

前記抗体が、 15A8 抗体、 ZME-018 抗体、 ScFvMEL 抗体、セツキシマブ抗体またはトラスツズマブ抗体である、項目 4 6 に記載のポリペプチド。

(項目 5 0)

前記細胞結合性部分ががん細胞において発現されるタンパク質、炭水化物または脂質に結合する、項目 4 3 に記載のポリペプチド。

(項目 5 1)

前記細胞結合性部分が、 GP240 、 5T4 、 HER1 、 HER2 、 CD-33 、 CD-38 、 f1t1 、 F1k-1 、 CEA 、 FGFR3 、 IGFBP2 または IGF-1R に結合する、項目 4 3 に記載のポリペプチド。

(項目 5 2)

前記ポリペプチドまたは前記細胞結合性部分が画像化剤とさらに結合体化している、項目 4 3 に記載のポリペプチド。

(項目53)

(a) 配列番号1と少なくとも80%同一な組換えグランザイムB (GrB) ポリペプチド、

(b) 細胞透過性ペプチド (CPP)、および

(c) 細胞標的化ポリペプチド

を含む組換えポリペプチドであって、前記CPPが前記GrBポリペプチドと前記細胞標的化ポリペプチドの間に位置するか、または前記CPPが前記細胞標的化ポリペプチドに対してC末端側に位置する、組換えポリペプチド。

(項目54)

前記CPPがT1、T2、INF7または26である、項目53に記載の組換えポリペプチド。

(項目55)

前記細胞標的化ポリペプチドがZMEまたは4D5である、項目53に記載の組換えポリペプチド

(項目56)

N末端からC末端までに、前記GrBポリペプチド、第1のリンカー、T1またはINF7 CPP、第2のリンカーおよびZME抗体を含む、項目53に記載の組換えポリペプチド。

(項目57)

N末端からC末端までに、前記GrBポリペプチド、第1のリンカー、4D5抗体、第2のリンカーおよび26 CPPを含む、項目53に記載の組換えポリペプチド。

(項目58)

(a) 細胞標的化scFv抗体ドメイン、

(b) 抗体重鎖定常 (Fc) ドメイン、および

(c) 短縮型セリンプロテアーゼ

を含む細胞標的化構築物。

(項目59)

前記ポリペプチドが、NからC末端までに、(c)短縮型セリンプロテアーゼ、(b)Fcドメイン、および(a)scFvドメインを含む、項目58に記載の細胞標的化構築物。

(項目60)

前記ポリペプチドが、NからC末端までに、(a)scFvドメイン、(b)Fcドメイン、(d)プロテアーゼ切断部位を含むペプチドおよび(c)短縮型セリンプロテアーゼを含む、項目58に記載の細胞標的化構築物。

(項目61)

前記短縮型セリンプロテアーゼが配列番号1と少なくとも80%同一なグランザイムB (GrB) ポリペプチドである、項目58に記載の細胞標的化構築物。

(項目62)

前記プロテアーゼにより切断された際に生じる前記GrBポリペプチドが、アミノ末端に配列IIGGHEAK (配列番号27) を含む、項目61に記載の細胞標的化構築物。

(項目63)

前記プロテアーゼ切断部位がカスパーーゼ切断配列、フューリン切断配列、グランザイムB切断配列または第Xa因子切断配列である、項目60に記載の細胞標的化構築物。

(項目64)

前記ポリペプチドが、配列YVDEVDIIGGHEAK (配列番号26) ; RVRRIGGHEAK (配列番号29) ; RVRRIGGHEAK (配列番号30) ; (I/A) (E/D) GRIGGGHEAK (配列番号31) ; YEVVDIIGGHEAK (配列番号32) ; WEHDIIIGGHEAK (配列番号33) ; DVADIIIGGHEAK (配列番号34) ; DEHDIIIGGHEAK (配列番号35) ; DEVVDIIGGHEAK (配列番号36) ; DMQDIIIGGHEAK (配列番号37) ; LEVDIIG

G H E A K (配列番号 3 8) ; L E H D I I G G H E A K (配列番号 3 9) ; V E I D I I G G H E A K (配列番号 4 0) ; V E H D I I G G H E A K (配列番号 4 1) ; I E T D I I G G H E A K (配列番号 4 2) ; L E T D I I G G H E A K (配列番号 4 3) または I E A D I I G G H E A K (配列番号 4 4) を含む、項目 6 1 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 6 5)

前記プロテアーゼ切断部位がカスパーゼ - 3 切断配列である、項目 6 0 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 6 6)

前記ポリペプチドが配列 Y V D E V D I I G G H E A K (配列番号 2 6) を含む、項目 6 1 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 6 7)

前記 F c ドメインがヒト I g G F c ドメインである、項目 5 8 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 6 8)

前記 F c ドメインがヒト I g G 1 F c ドメインである、項目 6 7 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 6 9)

前記 s c F v ドメインが、G P 2 4 0 、5 T 4 、H E R 1 、H E R 2 、C D - 3 3 、C D - 3 8 、V E G F R - 1 、V E G F R - 2 、C E A 、F G F R 3 、I G F B P 2 、F n 1 4 または I G F - 1 R に結合する、項目 6 9 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 7 0)

前記 s c F v ドメインが F n 1 4 に結合する、項目 6 9 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 7 1)

前記ポリペプチドが、配列番号 4 5 と少なくとも 9 0 % 同一な配列を含む、項目 7 0 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 7 2)

組換え G r B が、項目 2 4 に記載の配列を含む、項目 6 1 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 7 3)

前記 G r B コード配列が、L y s 2 7 および A r g 2 8 に対応する位置におけるアミノ酸置換を含む、項目 6 1 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 7 4)

L y s 2 7 および A r g 2 8 に対応する位置における前記アミノ酸置換が K 2 7 E または K 2 7 L および R 2 8 A である、項目 7 3 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 7 5)

前記 G r B コード配列が、⁸ 2 P K N ⁸ 4 に対応する位置において置換された配列 P V P N を含む、項目 5 8 に記載の細胞標的化構築物。

(項目 7 6)

項目 1 から 5 7 までのいずれか一項に記載のポリペプチドまたは項目 5 8 から 7 5 までのいずれか一項に記載の細胞標的化構築物を薬学的に許容される担体中に含む組成物。

(項目 7 7)

項目 1 から 5 7 までのいずれか一項に記載のポリペプチドまたは項目 5 8 から 7 5 までのいずれか一項に記載の細胞標的化構築物をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチド分子。

(項目 7 8)

項目 7 7 に記載のポリヌクレオチド配列を含む宿主細胞。

(項目 7 9)

項目 1 から 5 7 までのいずれか一項に記載のポリペプチドまたは項目 5 8 から 7 5 までのいずれか一項に記載の細胞標的化構築物を発現する、項目 7 8 に記載の宿主細胞。

(項目 8 0)

哺乳動物細胞、酵母細胞、細菌細胞、纖毛虫細胞または昆虫細胞である、項目 7 8 に記載の宿主細胞。

(項目 8 1)

ポリペプチドを製造する方法であって、

(a) 項目 7 7 に記載のポリヌクレオチド分子を、コードされるポリペプチドを產生する条件下で細胞において発現させるステップ、および

(b) 前記ポリペプチドを前記細胞から精製するステップを含む方法。

(項目 8 2)

細胞増殖性疾患を有する被験体を処置するための、項目 1 から 5 7 までのいずれか一項に記載のポリペプチドまたは項目 5 8 から 7 5 までのいずれか一項に記載の細胞標的化構築物の使用であって、前記ポリペプチドが細胞標的化部分と結合体化している、使用。

(項目 8 3)

前記細胞増殖性疾患が自己免疫疾患である、項目 8 2 に記載の使用。

(項目 8 4)

前記細胞増殖性疾患ががんまたは前がん状態である、項目 8 2 に記載の使用。

(項目 8 5)

前記がんが、肺がん、乳がん、脳がん、前立腺がん、脾臓がん、膵臓がん、子宮頸部がん、卵巣がん、頭頸部がん、食道がん、肝臓がん、皮膚がん、腎臓がん、白血病、骨がん、精巣がん、結腸がん、または膀胱がんである、項目 8 4 に記載の使用。

(項目 8 6)

少なくとも第 2 の抗がん療法を前記被験体に施すことをさらに含む、項目 8 4 に記載の使用。

(項目 8 7)

前記第 2 の抗がん療法が、外科的療法、化学療法、放射線治療、遺伝子療法または免疫療法である、項目 8 6 に記載の使用。

(項目 8 8)

細胞増殖性疾患を処置するための医薬の製造において使用するための、項目 1 から 5 7 までのいずれか一項に記載のポリペプチドまたは項目 5 8 から 7 5 までのいずれか一項に記載の細胞標的化構築物。

(項目 8 9)

細菌またはウイルス感染症を処置するための、項目 1 から 5 7 までのいずれか一項に記載のポリペプチドまたは項目 5 8 から 7 5 までのいずれか一項に記載の細胞標的化構築物の使用であって、前記ポリペプチドが細胞標的化部分と結合体化している、使用。

(項目 9 0)

項目 1 から 5 7 までのいずれかに記載のポリペプチドまたは項目 5 8 から 7 5 までのいずれか一項に記載の細胞標的化構築物を含む、被験体の処置において使用するための組成物。

(項目 9 1)

前記ポリペプチドが細胞結合性部分と結合体化している、項目 9 0 に記載の組成物。

(項目 9 2)

(a) 組換えグランザイム B (G r B) コード配列、

(b) 標的化ポリペプチド、および

(c) 配列番号 2 2 の配列を有する細胞透過性ペプチド (C P P) を含む標的化剤。

(項目 9 3)

前記標的化ポリペプチドが、H e r 2 / n e u に結合する、項目 9 2 に記載の標的化剤。

(項目 9 4)

前記標的化ポリペプチドが s c F v 4 D 5 である、項目 9 3 に記載の標的化剤。

(項目95)

N末端からC末端までに、(a)組換えG_rBコード配列、(i)第1のリンカーペプチド、(b)標的化ポリペプチド、(ii)第2のリンカーペプチド、および(c)配列番号22の配列を有する細胞透過性ペプチド(CPP)を含む、項目92に記載の標的化剤。

(項目96)

前記第1のリンカーペプチドまたは前記第2のリンカーペプチドが、配列番号13の配列を含む、項目95に記載の標的化剤。

(項目97)

前記組換えG_rBが、項目24に記載の配列を含む、項目92に記載の標的化剤。

(項目98)

配列番号24と少なくとも90%同一なアミノ酸配列を含む、項目92に記載の標的化剤。

(項目99)

配列番号24のアミノ酸配列を含む、項目98に記載の標的化剤。

(項目100)

ラパチニブ耐性がんまたはトラスツズマブ耐性がんを有する被験体を処置するための、Her2/neuを標的とするグランザイム治療薬の使用。

(項目101)

前記被験体が乳がんを有する、項目100に記載の使用。

(項目102)

前記被験体が、ラパチニブまたはトラスツズマブで以前に処置されている、項目100に記載の使用。

(項目103)

前記被験体がラパチニブ耐性がんを有する、項目100に記載の使用。

(項目104)

前記被験体がトラスツズマブ耐性がんを有する、項目100に記載の使用。

(項目105)

前記Her2/neuを標的とするグランザイム治療薬が、細胞透過性ペプチド(CPP)を含む、項目100に記載の使用。

(項目106)

前記Her2/neuを標的とするグランザイム治療薬が、項目92から99までのいずれか一項に記載の標的化剤である、項目100に記載の使用。

(項目107)

ラパチニブ耐性がんまたはトラスツズマブ耐性がんを有する被験体を処置するための医薬の作製において使用するための、Her2/neuを標的とするグランザイム治療薬。

本発明のある特定の実施形態は、短縮型セリンプロテアーゼポリペプチドおよびそのようなセリンプロテアーゼを含む融合タンパク質に関する。本明細書で使用される場合、短縮型セリンプロテアーゼポリペプチドとは、IIGG配列、IVGG配列またはILGG配列に対してN末端側に位置するリーダー配列が除去されるまたは異種配列で置き換えられるように短縮された、操作されたセリンプロテアーゼを指す。そのような短縮型セリンプロテアーゼポリペプチドの例は図1に示されている。いくつかの態様では、短縮型セリンプロテアーゼポリペプチドを細胞標的化部分と結合体化または融合して、細胞を標的とする細胞傷害性構築物をもたらす。そのような構築物は、例えば、がんなどの細胞増殖性疾患の処置において使用することができる。