

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7627258号
(P7627258)

(45)発行日 令和7年2月5日(2025.2.5)

(24)登録日 令和7年1月28日(2025.1.28)

(51)国際特許分類	F I		
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	Z N A	
A 6 1 K 38/08 (2019.01)	A 6 1 K 38/08		
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	L	
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 39/395	N	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T	
請求項の数 31 (全30頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2022-504507(P2022-504507)	(73)特許権者	516196853
(86)(22)出願日	令和2年7月29日(2020.7.29)		シャンハイ ハンセン バイオメディカル
(65)公表番号	特表2022-542088(P2022-542088 A)		カンパニー リミテッド
(43)公表日	令和4年9月29日(2022.9.29)		中華人民共和国シャンハイ 2 0 1 2 0 3
(86)国際出願番号	PCT/CN2020/105408		ジャンジアン ハイテクパーク ジンクウ
(87)国際公開番号	WO2021/018168		ア ロード ナンバー 3 7 2 8 ビルディ
(87)国際公開日	令和3年2月4日(2021.2.4)	(73)特許権者	317010428
審査請求日	令和5年7月13日(2023.7.13)		ジェンス ハンセン ファーマセウティカ
(31)優先権主張番号	201910695597.9		ル グループ カンパニー リミテッド
(32)優先日	令和1年7月30日(2019.7.30)		中華人民共和国ジェンス 2 2 2 0 4 7 リ
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		エンユンガン エコノミック・アンド・
		(74)代理人	110003007
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗BCMA抗体、その抗原結合断片、及びそれらの医療用途

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、該重鎖可変領域が、配列番号:3で表されるHCDR1、配列番号:4で表されるHCDR2、及び配列番号:5で表されるHCDR3を含み；該軽鎖可変領域が、配列番号:6で表されるLCDR1、配列番号:7で表されるLDCR2、及び配列番号:8で表されるLCDR3を含む、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項2】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、マウス抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体である、請求項1に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項3】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、ヒトのIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4、またはそれらの変異体由来する重鎖定常領域をさらに含む、請求項1に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項4】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、ヒトのIgG1、IgG2、またはIgG4由来する重鎖定常領域をさらに含む、請求項3に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項5】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:22で表されるIgG1重鎖定常領域をさらに含む、請求項3に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項6】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、ヒトの鎖、鎖、またはそれらの変異体に由来する軽鎖定常領域をさらに含む、請求項1に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項7】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:23で表される軽鎖定常領域をさらに含む、請求項6に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項8】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:9、配列番号:10、及び配列番号:11からなる群から選択される重鎖可変領域を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

10

【請求項9】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:12、配列番号:13、及び配列番号:14からなる群から選択される軽鎖可変領域を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項10】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:15、配列番号:16、及び配列番号:17からなる群から選択される重鎖を含む、請求項8に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項11】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:18、配列番号:19、及び配列番号:20からなる群から選択される軽鎖を含む、請求項9に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

20

【請求項12】

前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:9で表される重鎖可変領域、及び配列番号:12で表される軽鎖可変領域を含み；または、前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:10で表される重鎖可変領域、及び配列番号:13で表される軽鎖可変領域を含み；または、前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片が、配列番号:11で表される重鎖可変領域、及び配列番号:14で表される軽鎖可変領域を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

30

【請求項13】

前記抗BCMA抗体が、配列番号:15で表される重鎖、及び配列番号:18で表される軽鎖を含み；または、前記抗BCMA抗体が、配列番号:16で表される重鎖、及び配列番号:19で表される軽鎖を含み；または、前記抗BCMA抗体が、配列番号:17で表される重鎖、及び配列番号:20で表される軽鎖を含む、請求項12に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片。

【請求項14】

請求項1～13のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチド。

40

【請求項15】

請求項14に記載のポリヌクレオチドを含有する発現ベクター。

【請求項16】

請求項15に記載の発現ベクターで導入され、またはそれを含有する宿主細胞。

【請求項17】

前記宿主細胞が、細菌、酵母、または哺乳動物の細胞である、請求項16に記載の宿主細胞。

【請求項18】

前記宿主細胞が、大腸菌、ピキア・パストリス、CHO細胞、またはHEK293細胞である、

50

請求項17に記載の宿主細胞。

【請求項19】

抗BCMA抗体を産生するための方法であって、
請求項16～18のいずれか一項に記載の宿主細胞を培養するステップ；
培養物から、抗体を単離するステップ；及び
該抗体を精製するステップを含む、方法。

【請求項20】

請求項19に記載の抗BCMA抗体を産生するための方法であって、
前記宿主細胞が、HEK293細胞であり、
前記培養物が、細胞培養液であり、および
前記精製するステップが、クロマトグラフィー法により該抗体を精製するステップである
方法。

10

【請求項21】

請求項1～13のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、ならびに
薬剂的に許容される賦形剤または担体を含む、医薬組成物。

【請求項22】

請求項1～13のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片を含む、検
出または診断キット。

【請求項23】

該BCMA抗体またはその抗原結合断片のBCMAへの結合を検出できる1種以上の試薬も含む
、請求項22に記載の検出または診断キット。

20

【請求項24】

細胞毒性剤に結合する、請求項1～13のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその
抗原結合断片を含む、抗体薬物抱合体。

【請求項25】

該細胞毒性剤が、MMAF、SN-38、及びエキサテカンからなる群から選択される、請求項
24に記載の抗体薬物抱合体。

【請求項26】

BCMA媒介性の疾患または状態を治療または予防するための薬剤の調製における、請求
項1～13のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、または請求項21
に記載の医薬組成物、または請求項24に記載の抗体薬物抱合体の使用。

30

【請求項27】

BCMA媒介性の疾患または状態の検出、診断または予後のためのキットの調製における
、請求項1～13のいずれか一項に記載の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片の使用。

【請求項28】

前記BCMA媒介性の疾患または状態が、癌または自己免疫疾患である、請求項26または
27に記載の使用。

【請求項29】

前記癌が、BCMAを発現する癌であり、および前記自己免疫疾患が、エリテマトーデス、I
gA腎症、及びリウマチ性関節炎からなる群から選択される、請求項28に記載の使用。

40

【請求項30】

前記BCMAを発現する癌は、リンパ腫、白血病、または骨髄腫である、請求項29に記載
の使用。

【請求項31】

前記BCMAを発現する癌は、多発性骨髄腫である、請求項29に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、抗BCMA抗体、その抗原結合断片及び医療用途に関する。さらに、本開示は
、抗BCMA抗体及びその抗原結合断片、ならびにこれらを含むBCMA媒介性の疾患または

50

状態の診断または治療に用いるための医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

B細胞は、適応性の体液性免疫及び抗原を特異的に認識する抗体の産生に重要な役割を果たすリンパ球である。B細胞の3つの亜型は、ナイーブB細胞、免疫記憶B細胞、及び形質細胞である。VDJ組換えの過程において、ゲノムライブラリーから選択されるDNAの2つまたは3つの断片が組換えられて、抗体可変ドメインの組み合わせ配列を生成する。これにより、最大で 10^9 の固有のB細胞系統が異なる系統のB細胞によってコードされた可変ドメインをさらに改変することによって生成され、固有の標的に特異的な抗体が得られる。B細胞は多くの病気に関与している。B細胞の悪性形質変換は、多発性骨髄腫やホジキンリンパ腫等いくつかのリンパ腫を含む癌を引き起こす。B細胞は、全身性エリテマトーデス(SLE)やIgA腎症等の自己免疫疾患にも関与している。B細胞関連の癌や自己免疫疾患は、B細胞機能の異常と見なすことができる。そのため、このような疾患を制御するための可能な方針は、病的なB細胞を標的とする抗体を使用することである。

10

【0003】

BCMA (CD269またはTNFRSF17) は、TNF受容体スーパーファミリーのメンバーであり、リガンドBAFF (B細胞活性化因子) 及びAPRIL (増殖誘導リガンド) の非グリコシル化内因性膜受容体である。BCMAとその関連リガンドは、体液性免疫、B細胞の発達、及び恒常性維持の様々な機能を調節することができる。BCMAは、脾臓、リンパ節、胸腺、副腎、肝臓で検出される。これは、ヒト形質芽細胞、扁桃腺、脾臓、及び骨髄由来の形質細胞、ならびに扁桃腺免疫記憶B細胞及び胚中心B細胞によって発現し、B細胞系統の様々な分析により、成熟後にBCMAの発現レベルが上昇することが示されている。BCMAは、B細胞リンパ腫及び多発性骨髄腫で高発現している。

20

【0004】

BCMAに対する抗体は、例えば、Gras M-Pら、Int Immunol. 7(1995)1093-1106、WO200124811、WO200124812、WO2010104949、及びWO2012163805に記載されている。BCMAに対する抗体、ならびにリンパ腫及び多発性骨髄腫を治療するためのその使用は、例えば、WO2002066516及びWO2010104949に記載されている。WO2013154760は、BCMAを認識する部分及びT細胞を活性化する部分を含むキメラ抗原受容体に関する。

30

【0005】

US9273141は、内部移行できる抗原結合タンパク質を提供する。これは、BCMAに特異的に結合し、BAFF及び/またはAPRILのBCMAへの結合を阻害し、さらに抗原結合タンパク質と細胞毒を含む抱合体も提供する。

【0006】

本開示は、高い親和性、高い特異性、低い免疫原性、高い生物学的活性、著しい抗腫瘍効果、及び増強された形質膜陥入性を有する抗BCMA抗体、ならびに該抗体を含む細胞毒性の抱合体、及び腫瘍阻害におけるその使用を提供する。

【発明の概要】

【0007】

本開示のいくつかの実施形態によれば、以下を含む抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩が提供される。配列番号:3、配列番号:4、及び配列番号:5からなる群から選択される配列で表される少なくとも1つのHCDRを含む抗体重鎖可変領域；及び配列番号:6、配列番号:7、及び配列番号:8からなる群から選択される配列で表される少なくとも1つのLCDRを含む抗体軽鎖可変領域。

40

【0008】

本開示の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片の重鎖可変領域は、以下を含む：

配列番号:3で表されるHCDR1、

50

配列番号:4で表されるHCDR2、及び

配列番号:5で表されるHCDR3。

【0009】

本開示の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片の軽鎖可変領域は、以下を含む：

配列番号:6で表されるLCDR1、

配列番号:7で表されるLCDR2、及び

配列番号:8で表されるLCDR3。

【0010】

本開示の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、該重鎖可変領域が、

配列番号:3で表されるHCDR1、

配列番号:4で表されるHCDR2、及び

配列番号:5で表されるHCDR3

を含み、また、

該軽鎖可変領域が、

配列番号:6で表されるLCDR1、

配列番号:7で表されるLCDR2、及び

配列番号:8で表されるLCDR3

を含む。

【0011】

本開示のいくつかの実施形態によれば、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩が提供される。該抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:3、配列番号:4、及び配列番号:5、またはそれらの変異配列から選択される少なくとも1つのHCDRを含む。

【0012】

本開示のいくつかの実施形態によれば、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩が提供される。該抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:6、配列番号:7、及び配列番号:8、またはそれらの変異配列から選択される少なくとも1つのLCDRを含む。

【0013】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、

配列番号:3で表されるHCDR1またはその変異配列、

配列番号:4で表されるHCDR2またはその変異配列、及び

配列番号:5で表されるHCDR3またはその変異配列

を含む重鎖可変領域を含む。

【0014】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片の軽鎖可変領域は、

配列番号:6に示されるLCDR1またはその変異配列、

配列番号:7に示されるLCDR2またはその変異配列、及び

配列番号:8に示されるLCDR3またはその変異配列

を含む。

【0015】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、該重鎖可変領域が、

配列番号:3の変異配列で表されるHCDR1、

配列番号:4の変異配列で表されるHCDR2、及び

10

20

30

40

50

配列番号:5の変異配列で表されるHCDR3
を含み、また、
該軽鎖可変領域が、
配列番号:6の変異配列で表されるLCDR1、
配列番号:7の変異配列で表されるLCDR2、及び
配列番号:8の変異配列で表されるLCDR3
を含む。

【0016】

本開示の好ましい実施形態では、上記の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩が提供される。ここで、その変異配列は、抗体の活性及び安定性を最適化し、または免疫原性を低下させるCDR領域に1つから3つまでのアミノ酸変異を有する。

10

【0017】

本開示の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、マウス抗体である。

【0018】

本開示の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、キメラ抗体である。

【0019】

本開示の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、ヒト抗体である。

20

【0020】

本開示の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、ヒト化抗体である。

【0021】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、ヒトのIgG1またはその変異体、IgG2またはその変異体、IgG3またはその変異体、またはIgG4またはその変異体に由来する重鎖定常領域をさらに含む。

【0022】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、ヒトのIgG1、IgG2、またはIgG4に由来する重鎖定常領域をさらに含む。

30

【0023】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、アミノ酸変異後の増強されたADCC毒性を有するIgG1の重鎖定常領域をさらに含む。

【0024】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:22で表される重鎖定常領域をさらに含む。

40

【0025】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、ヒトの鎖またはその変異体、鎖またはその変異体に由来する軽鎖定常領域をさらに含む。

【0026】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剤的に許容される塩の好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:23で表される軽鎖定常領域をさらに含む。

【0027】

50

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩のさらに好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩は、配列番号:9、配列番号:10、及び配列番号:11からなる群から選択される配列で表される重鎖可変領域を含む。

【0028】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩のさらに好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:9、配列番号:10、または配列番号:11と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する重鎖可変領域を含む。

【0029】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩のさらに好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:12、配列番号:13、及び配列番号:14からなる群から選択される配列で表される軽鎖可変領域を含む。

【0030】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩のさらに好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:12、配列番号:13、または配列番号:14と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する軽鎖可変領域を含む。

【0031】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩のさらに好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:15、配列番号:16、または配列番号:17で表される重鎖を含む。

【0032】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩のさらに好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:15、配列番号:16、または配列番号:17と少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する重鎖を含む。

【0033】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩のさらに好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:18、配列番号:19、または配列番号:20で表される軽鎖を含む。

【0034】

本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩のさらに好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:18、配列番号:19、または配列番号:20と少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する軽鎖を含む。

【0035】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:9で表される重鎖可変領域及び配列番号:12で表される軽鎖可変領域を含む。

【0036】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、該重鎖可変領域が、配列番号:9から選択されるか、またはそれと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有し、該軽鎖可変領域が、配列番号:12から選択されるか、またはそれと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する。

【0037】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:10で表される重鎖可変領域及び配列番号:13で表される軽鎖可変領域を含む。

【0038】

10

20

30

40

50

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、該重鎖可変領域が、配列番号:10から選択されるか、またはそれと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有し、また、該軽鎖可変領域が、配列番号:13から選択されるか、またはそれと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する。

【0039】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:11で表される重鎖可変領域及び配列番号:14で表される軽鎖可変領域を含む。

【0040】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、該重鎖可変領域が、配列番号:11から選択されるか、またはそれと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有し、また、該軽鎖可変領域が、配列番号:14から選択されるか、またはそれと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する。

10

【0041】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:15で表される重鎖及び配列番号:18で表される軽鎖を含む。

【0042】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、重鎖及び軽鎖を含み、該重鎖が、配列番号:15から選択されるか、またはそれと少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有し、また、該軽鎖が、配列番号:18から選択されるか、またはそれと少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する。

20

【0043】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:16で表される重鎖及び配列番号:19で表される軽鎖を含む。

【0044】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、重鎖及び軽鎖を含み、該重鎖が、配列番号:16から選択されるか、またはそれと少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有し、また、該軽鎖が、配列番号:19から選択されるか、またはそれと少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する。

30

【0045】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、配列番号:17で表される重鎖及び配列番号:20で表される軽鎖を含む。

【0046】

本開示のより好ましい実施形態では、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、重鎖及び軽鎖を含み、該重鎖が、配列番号:17から選択されるか、またはそれと少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有し、また、該軽鎖が、配列番号:20から選択されるか、またはそれと少なくとも80%、85%、90%、95%、または99%の同一性を有する。

40

【0047】

本開示のさらに別の実施形態では、本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドが提供される。

【0048】

本開示のさらに別の実施形態では、本開示によるポリヌクレオチドを含有する発現ベクターが提供される。

【0049】

本開示のさらに別の実施形態では、本開示による発現ベクターで導入され、またはそれを含有する宿主細胞が提供される。

50

【 0 0 5 0 】

本開示のさらに別の実施形態では、本開示による発現ベクターで形質変換された宿主細胞が提供される。

【 0 0 5 1 】

本開示の好ましい実施形態では、前記宿主細胞は、細菌であり、好ましくは大腸菌である。

【 0 0 5 2 】

本開示の好ましい実施形態では、前記宿主細胞は、酵母であり、好ましくはピキア・パストリスである。

【 0 0 5 3 】

本開示の好ましい実施形態では、前記宿主細胞は、哺乳動物の細胞であり、好ましくはCHO細胞またはHEK293細胞である。

【 0 0 5 4 】

別の態様では、本開示は、以下のステップを含む、抗BCMA抗体を産生するための方法を提供する：

本開示に従って宿主細胞を培養するステップ、
該培養物から抗体を単離するステップ、及び
該抗体を精製するステップ。

【 0 0 5 5 】

本開示によって提供される抗BCMA抗体を産生するための方法において、本開示に従った宿主細胞の培養については、好ましくはHEK293細胞を培養することであり；該培養物からの抗体の単離については、好ましくは細胞培養液からの単離であり；また、該抗体の精製については、アフィニティークロマトグラフィーによる精製、好ましくはクロマトグラフィー法による精製である。

【 0 0 5 6 】

本開示のさらに別の実施形態では、前記抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、または本開示によるその薬剂的に許容される塩、ならびに薬剂的に許容される賦形剤、希釈剤または担体を含む医薬組成物が提供される。

【 0 0 5 7 】

本開示のさらに別の実施形態では、本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩を含む検出または診断試薬が提供される。

【 0 0 5 8 】

本開示のさらに別の実施形態では、本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩、ならびに検出または診断に有用な標識二次抗体、緩衝液及び基質を含む検出または診断キットが提供される。

【 0 0 5 9 】

本開示のさらなる実施形態では、本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩、及びBCMA抗体またはその抗原結合断片のBCMAへの結合を検出できる1種以上の試薬を含む検出または診断キットが提供される。

【 0 0 6 0 】

別の態様では、本開示は、BCMA媒介性の疾患または状態の治療または予防に用いるための、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩、またはそれらを含む本開示による医薬組成物を提供する。

【 0 0 6 1 】

別の態様では、本開示は、BCMA媒介性の疾患または状態を治療または予防するための薬剤の調製における、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩、またはそれらを含む本開示による医薬組成物の使用を提供する。

【 0 0 6 2 】

別の態様では、本開示は、BCMA媒介性の疾患または状態の検出、診断及び予後に使用するための、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩、

10

20

30

40

50

またはそれらを含む本開示による検出または診断試薬を提供する。

【0063】

別の態様では、本開示は、BCMA媒介性の疾患または状態の検出、診断及び予後のためのキットの調製における、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、またはその薬剂的に許容される塩、またはそれらを含む本開示による検出または診断試薬の使用を提供する。

【0064】

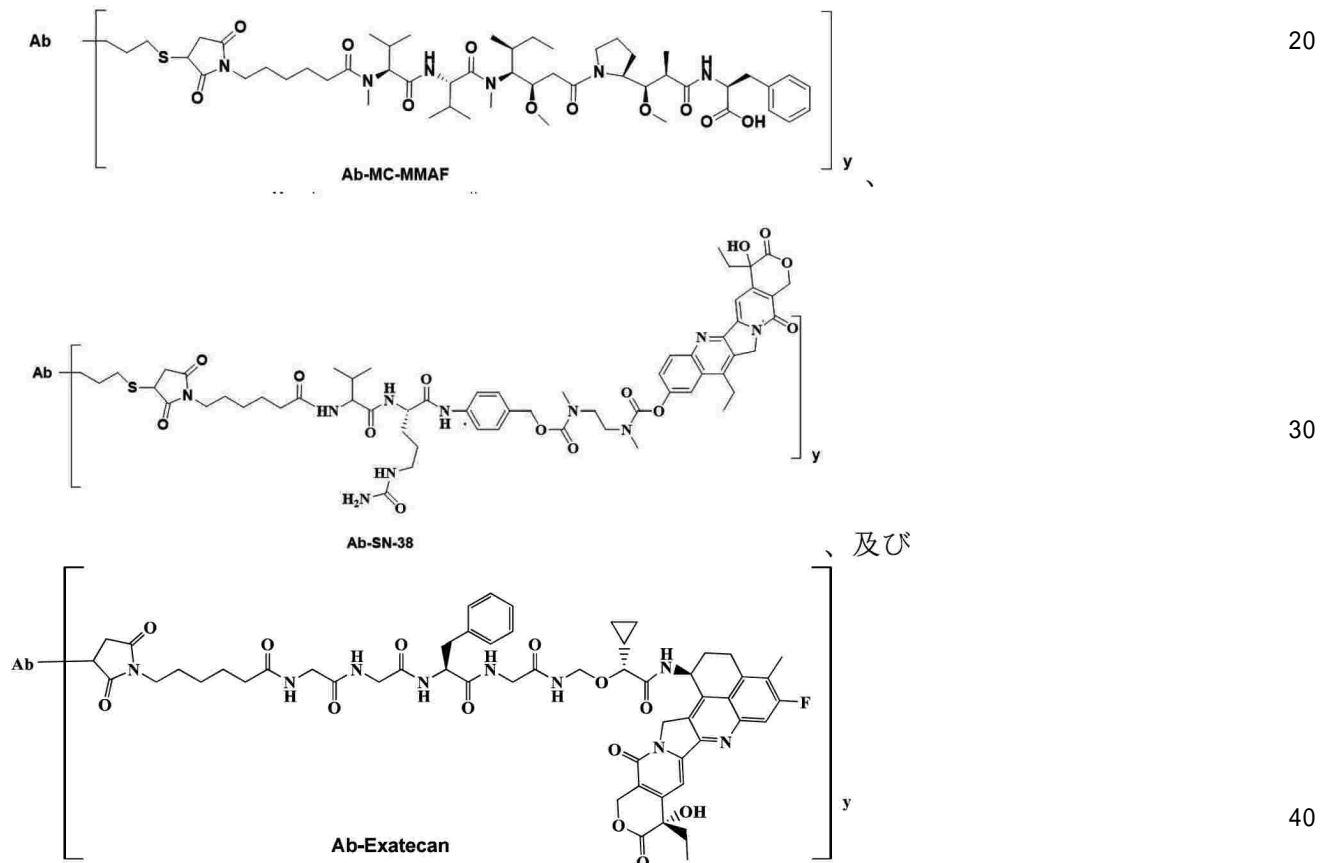
特定の実施形態では、前記BCMA媒介性の疾患または状態は、癌であり、好ましくはBCMA発現癌であり、より好ましくはリンパ腫、白血病、または骨髄腫であり、最も好ましくは多発性骨髄腫である。

【0065】

特定の実施形態では、前記BCMA媒介性の疾患または状態は、自己免疫疾患であり、好ましくはエリテマトーデス、IgA腎症及び関節リウマチである。

【0066】

別の態様では、本開示は、細胞毒性剤と結合した本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片を含む抗体薬物抱合体を提供し、好ましくは、該細胞毒性剤が、MMAF、SN-38、及びエキサテカンからなる群から選択される。さらに好ましくは、本開示による抗体薬物抱合体は、以下からなる群から選択される構造式を有する。



式中、Abが上記のような本開示による抗BCMA抗体またはその抗原結合断片である。

【0067】

さらに、本開示は、BCMA媒介性の疾患または状態を治療するための薬剤の調製における本開示による抗体薬物抱合体の使用を提供する。前記BCMA媒介性の疾患または状態が、癌及び自己免疫疾患からなる群から選択される。前記癌が、好ましくはBCMAを発現する癌であり、より好ましくはリンパ腫、白血病、または骨髄腫であり、最も好ましくは多発性骨髄腫である。前記自己免疫疾患が、好ましくはエリテマトーデス、IgA腎症、及び

10

20

30

40

50

リウマチ性関節炎からなる群から選択される。

【0068】

別の態様では、本開示は、それを必要とする被験者におけるBCMA媒介性の疾患または状態を治療するための方法を提供する。該方法が、治療有効量の抗BCMA抗体またはその抗原結合断片、または本開示によるその薬剤的に許容される塩、またはその医薬組成物、または本開示の抗体薬物抱合体を該被験者に投与することを含む。

【0069】

本開示によって提供される抗BCMA抗体またはその抗原結合断片は、高い親和性、高い特異性、低い免疫原性、高い生物学的活性、及び著しい抗腫瘍効果を有する。一方、本開示の抗体は、BCMA抗原に結合した後に迅速に内部移行することができる。これらは、治療上の用途または迅速な内部移行が必要な他の用途のために、ADC形態での適用が示されている。ADC形態の本開示の抗体は、BCMMAFMAを発現する腫瘍細胞を効率的に殺傷することができる。

【0070】

詳細な説明

用語

本開示を理解しやすくするために、特定の技術的及び科学的用語を以下に具体的に定義する。本明細書の他の場所で明確に定義されていない限り、本明細書で使用される他の全ての技術的及び科学的用語は、本開示が属する当業者によって一般に理解される意味を有する。

【0071】

本開示で使用されるアミノ酸の3文字コード及び1文字コードは、J. Biol. Chem, 243, p3558(1968)に記載されている通りである。

【0072】

本開示に記載される「抗体」という用語は、鎖間ジスルフィド結合によって連結された2本の同じ重鎖及び2本の同じ軽鎖からなるテトラペプチド鎖構造の免疫グロブリンを指す。該免疫グロブリンの重鎖定常領域のアミノ酸組成と配列の順序が異なるため、それらの抗原性も異なる。これによって、免疫グロブリンは、免疫グロブリンのアイソタイプとして知られる5種類に分類される。即ち、IgM、IgD、IgG、IgA、及びIgEであり、それらの対応する重鎖は、それぞれ μ 鎖、 δ 鎖、 γ 鎖、 α 鎖、及び ϵ 鎖である。同じタイプのIgは、ヒンジ領域のアミノ酸組成の違い、及び重鎖ジスルフィド結合の数と位置に応じて、異なるサブクラスに分類できる。例えば、IgGは、IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4に分類できる。軽鎖は、定常領域の違いによって、 κ 鎖及び λ 鎖に分類される。該5種類のIgはそれぞれ、 μ 鎖または δ 鎖を持つことができる。

【0073】

本開示において、本開示による抗体軽鎖は、ヒトまたはマウスの κ 鎖、 λ 鎖、またはそれらの変異体を含む軽鎖定常領域をさらに含むことができる。

【0074】

本開示において、本開示による抗体重鎖は、ヒトまたはマウスのIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4、またはそれらの変異体を含む重鎖定常領域をさらに含むことができる。

【0075】

抗体の重鎖と軽鎖のN末端付近にある約110のアミノ酸の配列は、大きく変動し、可変領域(V領域)である。C末端付近にある残りのアミノ酸配列は、比較的安定しており、定常領域(C領域)である。可変領域は、3つの超可変領域(HVR)及び4つのフレームワーク領域(FR)を含み、その配列は比較的保守的である。前記3つの超可変領域は、抗体の特異性を決定し、それらは相補性決定領域(CDR)としても知られる。軽鎖可変領域(VL)及び重鎖可変領域(VH)のそれぞれは、3つのCDR領域及び4つのFR領域で構成されている。アミノ末端からカルボキシル末端への配置の順序は、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4である。軽鎖の3つのCDR領域は、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3を指し；重鎖の3つのCDR領域は、HCDR1、HCDR2、及びHCDR3を指す。本開示による抗体

10

20

30

40

50

または抗原結合断片のVL領域及びVH領域のCDRアミノ酸残基の数及び位置は、既知のKabat付番基準及びKabat、AbM、またはIMGT定義基準(<http://bioinf.org.uk/abs/>)に準拠している。

【0076】

「抗原提示細胞」または「APC」という用語は、その表面にMHCと複合体を形成した外来抗原を提示する細胞である。T細胞は、T細胞受容体(TCR)を利用してそのような複合体を認識する。APCの例には、樹状細胞(DC)、末梢血単核細胞(PBMC)、単核球、Bリンパ芽球、及び単核球由来の樹状細胞が含まれるが、これらに限定されない。

【0077】

「抗原提示」という用語は、APCによって抗原を捕捉し、それらがT細胞によって、例えばMHC-I/MHC-II抱合体の成分として認識されることを可能にするプロセスを指す。

10

【0078】

「BCMA」という用語は、細胞によって自然に発現されるBCMAの任意の変異体またはイソ型を含む。本開示の抗体は、非ヒト種に由来するBCMAと交差反応することができる。あるいは、前記抗体は、ヒトBCMAに特異的であり、他種との交差反応性を示さない場合もある。BCMAまたはその任意の変異体またはイソ型は、それを自然に発現する細胞または組織から単離することができ、または当技術分野における汎用の技術及び本明細書に記載の技術を用いる組換え技術によって産生することができる。好ましくは、抗BCMA抗体は、正常なグリコシル化パターンを有するヒトBCMAを標的とする。

【0079】

「組換えヒト抗体」という用語は、組換え方法によって調製され、発現され、製作され、または単離されたヒト抗体を含む。その関連の技術及び方法は、当技術分野で周知である。例えば、

20

1. ヒト免疫グロブリン遺伝子を有するトランスジェニック及びトランス染色体動物(例えば、マウス)から、またはそこから調製された融合細胞から単離された抗体；
2. トランスフェクターマ等の抗体を発現するように形質変換された宿主細胞から単離された抗体；
3. 組換え組み合わせのヒト抗体ライブラリーから単離された抗体；及び
4. ヒト免疫グロブリン遺伝子配列を他のDNA配列にスプライシングする等の方法によって調製され、発現され、製作され、または単離された抗体。

30

【0080】

このような組換えヒト抗体は、生殖系列遺伝子によってコードされる特定のヒト生殖系列免疫グロブリン配列を利用する可変領域及び定常領域を含むが、抗体成熟中に起こるようなその後の再配列及び突然変異も含む。

【0081】

本開示における「マウス抗体」という用語は、当技術分野の知識及び技術に従って調製されたヒトBCMAに対するモノクローナル抗体である。調製中、被験者にBCMA抗原を注射し、次に、所望の配列または機能特性を有する抗体を発現する融合細胞を単離する。本開示の好ましい実施形態では、マウスBCMA抗体またはその抗原結合断片は、マウスの鎖、鎖、またはそれらの変異体の軽鎖定常領域をさらに含み得るか、またはマウスのIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4、またはそれらの変異体の重鎖定常領域をさらに含み得る。

40

【0082】

「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列の可変領域及び定常領域を有する抗体を含む。本開示のヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基を含み得る(例えば、*in vitro*でのランダムまたは部位特異的変異誘発または*in vivo*での体細胞変異によって導入された変異)。しかし、「ヒト抗体」という用語は、別の哺乳動物種(マウス等)の生殖細胞系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植された抗体(即ち、「ヒト化抗体」)を含まない。

【0083】

50

CDR移植抗体としても知られる「ヒト化抗体」という用語は、マウスCDR配列をヒト抗体可変領域のフレームワークに移植することによって産生される抗体を指す。ヒト化抗体は、大量のマウスタンパク質成分を運ぶキメラ抗体によって誘発された強い免疫応答の欠点を克服することができる。免疫原性の低下によって引き起こされる活性低下を回避するために、ヒト抗体可変領域を最小限の逆突然変異に供して、その活性を維持することができる。

【0084】

「キメラ抗体」という用語は、マウス抗体の可変領域をヒト抗体の定常領域と融合させることによって形成された抗体である。これは、マウス抗体によって誘導された免疫応答を軽減することができる。キメラ抗体を確立するには、次のことが必要とされる：まず、マウス特異的モノクローナル抗体を分泌する融合細胞を確立すること；次に、該マウス融合細胞細胞から可変領域遺伝子をクローニングすること；また次に、必要に応じてヒト抗体の定常領域遺伝子をクローニングし、マウス可変領域遺伝子をヒト定常領域遺伝子と連結してキメラ遺伝子を形成し、これをヒト発現ベクターに挿入すること；最後に、真核生物産業システムまたは原核生物産業システムの中で該キメラ抗体分子を発現させること。ヒト抗体定常領域は、ヒトのIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4、またはそれらの変異体の重鎖定常領域、好ましくはヒトのIgG1、IgG2、またはIgG4の重鎖定常領域、またはアミノ酸変異後に増強されたADCC（抗体依存性細胞介在性細胞傷害）を有するIgG1の重鎖定常領域から選択され得る。

【0085】

「抗原結合断片」という用語は、抗体及び通常親抗体の抗原結合領域または可変領域の少なくとも一部（例えば、1つまたは複数のCDR）を含む抗体類似体の抗原結合断片を指す。前記抗体断片は、親抗体の結合特異性の少なくとも一部を保持している。一般に、その活性がモルで表される場合、前記抗体断片は、親の結合活性の少なくとも10%を保持する。好ましくは、前記抗体断片は、標的にして、親抗体の結合親和性の少なくとも20%、50%、70%、80%、90%、95%、または100%以上を保持する。抗原結合断片の例には、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、線状抗体、単鎖抗体、ナノボディ、ドメイン抗体、及び多重特異性抗体が含まれるが、これらに限定されない。遺伝子操作された抗体変異体は、HolligerとHudson, 2005, Nat. Biotechnol. 23:1126-1136に概説されている。

【0086】

「Fab断片」は、1本の軽鎖、CH1、及び1本の重鎖の可変領域で構成されている。Fab分子の重鎖は、別の重鎖分子とジスルフィド結合を形成することはできない。

【0087】

「Fc」領域は、CH1及びCH2ドメインを含む2つの抗体重鎖断片を含む。該2つの重鎖断片は、2つ以上のジスルフィド結合によって、及びCH3ドメインの疎水性相互作用によって一緒に保持される。

【0088】

「Fab'断片」は、軽鎖と、VHドメイン、CH1ドメイン、及びCH1ドメインとCH2ドメインとの間の領域を含む重鎖の一部を含み、そのため、2つのFab'断片の2本の重鎖の間に鎖間ジスルフィド結合が形成され、それによってF(ab')₂分子が形成される。

【0089】

「F(ab')₂断片」は、2本の軽鎖と、CH1ドメインとCH2ドメインとの間の定常領域の一部を含む2本の重鎖を含み、それにより、2本の重鎖間に鎖間ジスルフィド結合を形成する。従って、F(ab')₂断片は、該2本の重鎖間のジスルフィド結合によって一緒に保持された2つのFab'断片で構成される。

【0090】

「Fv領域」は、重鎖及び軽鎖の両方からの可変領域を含むが、定常領域を欠いている。

【0091】

「多重特異性抗体」という用語は、その最も広い意味で使用され、複数のエピトープに特異性を有する抗体を包含する。これらの多重特異性抗体には、以下が含まれるが、これ

10

20

30

40

50

らに限定されない：重鎖可変領域VH及び軽鎖可変領域VLを含む抗体(ここで、VH-VLユニットは、複数のエピトープに特異性を有する)；2つ以上のVL及びVH領域を有する抗体(ここで、各VH-VLユニットは、異なる標的または同じ標的の異なるエピトープに結合する)；2つ以上の単一可変領域を有する抗体(ここで、各単一可変領域は、異なる標的または同じ標的の異なるエピトープに結合する)；全長抗体、抗体断片、ダイアボディ、二重特異性ダイアボディ及びトライアボディ、共有結合または非共有結合した抗体断片等。

【0092】

「単鎖抗体」という用語は、抗体の重鎖可変領域VHと軽鎖可変領域VLを、リンカーペプチドを介して連結することによって形成される単鎖組換えタンパク質である。これは、完全な抗原結合部位を持つ最小の抗体断片である。

10

【0093】

「ドメイン抗体断片」という用語は、免疫学的機能を有する免疫グロブリン断片であり、重鎖可変領域または軽鎖可変領域のいずれかを含む。いくつかの場合では、2つ以上のVH領域は、ペプチドリンカーによって共有結合して二価ドメイン抗体断片を形成する。該二価ドメイン抗体断片の2つのVH領域は、同じ抗原または異なる抗原を標的にすることができる。

【0094】

本開示における「BCMAへの結合」という用語は、ヒトBCMAと相互作用できることを指す。

【0095】

本開示における「抗原結合部位」という用語は、本開示の抗体または抗原結合断片によって認識される三次元部位を指す。

20

【0096】

「エピトープ」という用語は、免疫グロブリンまたは抗体に特異的に結合する抗原上の部位を指す。エピトープは、タンパク質の三次フォールディングによって並置された隣接アミノ酸または非隣接アミノ酸によって形成することができる。隣接するアミノ酸によって形成されたエピトープは、通常、変性溶媒への曝露後に維持されるが、三次フォールディングによって形成されるエピトープは、通常、変性溶媒での処理後に失われる。エピトープは通常、少なくとも3~15個の、独特の空間的立体配座でのアミノ酸を含む。どのエピトープが所与の抗体に結合するかを測定するための方法は、当技術分野で周知され、免疫プロットング、免疫沈降検出分析等が含まれる。エピトープの空間的立体配座を測定するための方法には、当技術分野の技術及び本明細書に記載の技術が含まれ、例えば、X線結晶分析、二次元核磁気共鳴等が含まれる。

30

【0097】

本開示で使用される「特異的に結合する」及び「選択的に結合する」という用語は、抗体が所定の抗原上のエピトープへ結合することを指す。一般に、組換えヒトBCMAを分析物として使用し、抗体をリガンドとして使用する場合、機器の表面プラズモン共鳴(SPR)技術で測定すると、抗体は、約 10^{-7} M未満またはそれ以下の平衡解離定数(K_D)で所定の抗原に結合し、そして、所定の抗原に対するその結合親和性は、所定の抗原または密接に関連する抗原以外の非特異的抗原(BSA等)に対するその結合親和性の少なくとも2倍である。「抗原を認識する抗体」という用語は、本明細書において「特異的に結合する抗体」という用語と交換可能に使用することができる。

40

【0098】

「交差反応性」という用語は、異なる種に由来するBCMAに結合する本開示の抗体の能力を指す。例えば、ヒトBCMAに結合する本開示の抗体はまた、他種のBCMAに結合することができる。交差反応性は、精製された抗原との特異的反応性、またはBCMAを生理学的に発現する細胞との結合または機能的相互作用を検出することにより、結合アッセイ(SPRやELISA等)で測定される。交差反応性を測定するための方法には、本明細書に記載の標準的な結合アッセイ、例えば、表面プラズモン共鳴(SPR)分析またはフローサイトメトリーが含まれる。

50

【0099】

「抑制」または「遮断」という用語は、互換的に使用することができ、部分的及び完全な抑制/遮断の両方を包含する。リガンドの阻害/遮断は、好ましくは、リガンド結合が阻害または遮断なしで起こるときに起こる正常なレベルまたは活性のタイプを減少または変化させる。また、阻害及び遮断に意図されることとして、抗BCMA抗体と接触するときのリガンドの結合親和性が、抗BCMA抗体と接触しないリガンドと比較して、測定可能に減少することを含む。

【0100】

「増殖阻害」（例えば、細胞の増殖阻害）という用語は、測定可能な細胞増殖の減少を含むことを意図している。

【0101】

「誘導された免疫応答」及び「増強された免疫応答」という用語は、交換可能に使用でき、特定の抗原によって刺激された（即ち、受動的または適応的）免疫応答を指す。CDCまたはADCCを誘導するような「誘導する」という用語は、特定の直接的な細胞殺傷メカニズムを刺激することを指す。

【0102】

本開示における「ADCC」、即ち、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害は、Fc受容体を発現する細胞が、抗体のFcセグメントを認識することにより、抗体でコーティングされた標的細胞を直接に殺傷することを意味する。IgGのFcセグメントを改変することで、抗体のADCC機能を増強し、低減し、または排除することができる。該改変とは、抗体の重鎖定常領域における変異を指す。

【0103】

抗体及び抗原結合断片を産生して精製するための方法は周知され、Cold Spring Harborの「抗体：実験室マニュアル」第5～8,15章等の先行技術に見出すことができる。例えば、マウスをヒトBCMAまたはその断片で免疫し、得られた抗体を再生及び精製し、従来法によるアミノ酸配列の決定に供することができる。従来法を用いて、抗原結合断片を調製することもできる。本発明の抗体または抗原結合断片は、1つまたは複数のヒトFR領域を非ヒトCDR領域に付加するように遺伝子操作されている。ヒトFR生殖細胞系列配列は、ImmunoGeneTics (IMGT) Website <http://imgt.cines.fr>、またはImmunoglobulin FactsBook, 2001 ISBN012441351から入手できる。

【0104】

本開示の操作された抗体または抗原結合断片を従来法で調製し、精製することができる。対応する抗体のcDNA配列をクローン化し、GS発現ベクターに再結合することができる。組換え免疫グロブリン発現ベクターは、CHO細胞を安定的に遺伝子導入することができる。より推奨される先行技術として、哺乳動物の発現系は、特にFc領域の高度に保存されたN末端に抗体のグリコシル化をもたらすことができる。安定したクローンは、ヒト抗原に特異的に結合する抗体を発現させることによって得られる。陽性クローンは、バイオリアクターの無血清培地で増殖され、抗体を産生する。従来手法で、抗体が分泌される培養液を精製し、採取することができる。従来法で該抗体を濾過し、濃縮することができる。可溶性混合物及び多量体も、従来法、例えば、モレキュラーシーブやイオン交換によって除去することができる。得られた生成物を直ちに例えば-70 で凍結し、または凍結乾燥する必要がある。

【0105】

本開示の抗体は、モノクローナル抗体を指す。本開示におけるモノクローナル抗体 (mAb) は、単一のクローン化された細胞株（その例には、真核生物の細胞株、原核生物の細胞株、またはファージクローン化された細胞株が含まれるが、これらに限定されない。）から得られる抗体を指す。モノクローナル抗体または抗原結合断片は、例えば、融合細胞技術、組換え技術、ファージディスプレイ技術、合成技術（CDR移植等）、または他の既存の技術を用いる組換えによって得ることができる。

【0106】

10

20

30

40

50

動物、人間、実験対象、細胞、組織、臓器、または体液に適用される場合の「投与する」、「与える」及び「治療する」は、外因性の薬剤、治療薬、診断薬、または組成物を該動物、ヒト、実験対象、細胞、組織、臓器、または体液と接触させることを指す。「投与する」、「与える」及び「治療する」は、例えば、治療、薬物動態、診断、研究、及び実験方法を指すことができる。細胞を処理することは、試薬を細胞と接触させること、及び試薬を液体と接触させることを含み、ここで、該液体が前記細胞と接触している。「投与する」、「与える」及び「治療する」はまた、例えば細胞を、*in vitro*及び*ex vivo*で、試薬、診断薬、結合組成物、または別の細胞で処理することを指す。「治療する」は、人間、動物、または研究対象に適用される場合、治療的または予防的な手段、研究、及び診断への応用を指す。

10

【0107】

「治療」は、例えば本開示の抗体のいずれか1つを含む内部または外部の治療薬を、治療薬が治療効果を有することが知られている1つまたは複数の疾患症状を有する患者に与えることを指す。一般に、該治療薬は、治療対象または集団における1つまたは複数の疾患症状を緩和するのに有効な量で与えられ、そのような症状の退行を誘発するか、またはそのような症状の発症を臨床的に測定可能な程度まで阻害する。特定の疾患症状を緩和するのに有効な治療薬の量（「治療有効量」とも呼ばれる）は、様々な要因、例えば、患者の病状、年齢及び体重、ならびに該患者において所望の治療効果を生み出す薬物の能力によって変化し得る。病気の症状が緩和されたかどうかは、症状の重症度または進行を評価するために医師または他の医療専門家によって一般的に用いられる任意の臨床試験方法によって評価することができる。本開示の実施形態（例えば、治療方法または生成物）は、関心のある各疾患症状を軽減するのに効果がないかもしれないが、Student t 検定、chi-square 検定、MannとWhitneyのU検定、Kruskal-Wallis検定（H検定）、Jonckheere-Terpstra検定、及びWilcoxon検定等当技術分野で知られている統計的試験方法によって決定されるように、統計的に有意な数の患者の関心のある疾患症状を軽減するはずである。

20

【0108】

本明細書及び特許請求の範囲の全体で使用される「本質的に・・・からなる」という用語またはその変形は、記載された全ての要素または要素群を含み、任意選択で、所与の投薬レジメン、方法または組成物の基本的または新しい特性を著しく変化させない、記載された要素と性質が類似または異なる他の要素を含むことを意味する。

30

【0109】

本開示において特定の物体に適用される「自然発生の」という用語は、該物体が自然界に見出され得るという事実を指す。例えば、天然源から単離でき、実験室で意図的に人工的に改変されていない生物（ウイルスを含む）に存在するポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列は、自然発生のものである。

【0110】

「有効量」は、病状の症状または状態を改善または予防するのに十分な量を含む。有効量とは、診断を可能にし、または容易にするのに十分な量も指す。特定の患者または動物対象の有効量は、例えば、治療される状態、患者の全般的な健康状態、薬物投与の方法、経路及び用量、及び副作用の重症度等の要因によって変化する。有効量は、重大な副作用または毒性作用を回避する最大の用量または投薬レジメでありうる。

40

【0111】

「外因性」とは、背景に応じて生物、細胞、または人体の外部で産生された物質を指す。

【0112】

「内因性」とは、背景に応じて細胞、生物、または人体の内部で産生された物質を指す。

【0113】

「同一性」とは、2つのポリヌクレオチド配列間または2つのポリペプチド間の配列類似性を指す。整列した2つの配列の位置が同じ塩基またはアミノ酸単量体サブユニットによって占められている場合、例えば、2つのDNA分子の各位置がアデニンによって占められている場合、分子は該位置で相同である。2つの配列間の同一性百分率は、2つの配列によ

50

って共有される一致または相同位置の数を、比較される位置の数で割って、100%をかけた関数である。例えば、最適な配列の整列では、2つの配列の10個の位置のうち6個が一致または相同であれば、該2つの配列は60%相同である。一般に、最大の同一性百分率を得るために2つの配列が整列されるときに、該整列が行われる。

【0114】

本明細書で使用される「細胞」、「細胞株」及び「細胞培養」という表現は交換可能に用いることができ、そのような名称は全てその子孫を含む。従って、「形質変換体」及び「形質変換細胞」という言葉は、継代の数に関係なく、初代試験細胞及びそれに由来する培養物を含む。理解されるべきこととして、意図的または意図的でない突然変異のため、全ての子孫がDNA含有量に関して完全に同じであるとは限らない。元の形質変換細胞でスクリーニングされたものと同じ機能または生物学的活性を有する変異子孫が含まれる。異なる名称が参照される場合、その文脈から明白に理解することができる。

10

【0115】

「任意の」または「任意に」とは、以下に説明する事象または状況が発生する可能性があるが必ずしも発生しないことを意味し、該記述には、該事象または状況が発生する場合または発生しない場合が含まれる。例えば、「任意に1つ～3つの抗体重鎖可変領域を含む」は、特定の配列の抗体重鎖可変領域が存在することができるが、存在する必要はないことを意味する。

【0116】

「医薬組成物」は、1つまたは複数の、本明細書に記載の抗体または抗原結合断片、ならびに生理学的/薬剂的に許容される担体及び賦形剤等の他の成分を含むことを意味する。医薬組成物の目的は、生物学的活性を示すために有効成分の吸収を助長するような、生物への化合物の投与を容易にすることである。

20

【0117】

「薬物負荷」(DAR)はyで表され、抗体-薬物抱合体における抗体あたりの細胞毒性薬物の平均数である。結合反応から産生された抗体薬物抱合体の薬物負荷(DAR)は、従来の手段、例えば、質量分析、HPLC、及びELISAによって特徴付けることができる。これらの手段により、y値での抗体薬物抱合体の量的な分布を測定することができる。

【発明の詳細な説明】

【0118】

以下の実施例を参照して本開示をさらに説明するが、これらの実施例は、本開示の範囲を限定するものと見なされるべきではない。本開示の実施例において具体的な条件が記載されていない場合には、実験方法は、通常、Cold Spring Harborの「抗体：実験マニュアル」及び「分子クローニング：実験室マニュアル」等の汎用される条件、または原材料または製品のメーカーが推奨する条件に従うものである。入手元が記載されていない試薬は、市場から購入された汎用の試薬である。

30

【0119】

実施例1：抗原の調製

ヒトBCMAのHisタグ付き細胞外ドメインをコードするタンパク質(BCMA-His)をSin oBiologics(カタログ番号：10620-H08H)に従って合成した。

40

BCMA-Hisの配列：

MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAHHHH
HHHHHHH

配列番号：21

【0120】

実施例2：マウス融合細胞及び抗体配列の取得

合計5匹のBalb/c及び5匹のA/Jマウス(雌、10週齢)を、ヒト抗原BCMA-Hisで免疫化した。シグマ社の完全フロイント免疫賦活剤(CFA)及びシグマ社の不完全フロイント免疫賦活剤(IFA)を用いた。免疫原と免疫賦活剤を1：1の比率で完全に混合し、乳化して安定した「油中水」液を調製した。注射量は、25 µg/200 µL/マウスであった。

50

【 0 1 2 1 】

表 1 免疫化スキーム

1 日目	1 回目の免疫、完全フロイント免疫賦活剤
21 日目	2 回目の免疫、不完全フロイント免疫賦活剤
35 日目	3 回目の免疫、不完全フロイント免疫賦活剤
42 日目	採血及び血清力価試験 (3 回免疫後の血液)
49 日目	4 回目の免疫、不完全フロイント免疫賦活剤
56 日目	採血及び血清力価試験 (4 回免疫後の血液)

10

【 0 1 2 2 】

実施例3に従って免疫化されたマウスの血清の血清力価及び細胞表面抗原に結合する能力を間接ELISA法で評価した。力価の検出結果(10万倍以上の希釈)に基づいて細胞融合の開始を測定した。高い血清力価、親和性及びFACS結合を有する免疫化されたマウスを1回の最終免疫化のために選択し、次にそれらを殺した。脾臓細胞をSP2/0骨髄腫細胞に融合させ、播種して融合細胞を得た。目的の融合細胞を間接ELISAでスクリーニングし、限界希釈法によりモノクローナル細胞株として樹立した。組換えタンパク質に結合する融合細胞を選択するために、得られた抗体陽性株を間接ELISAでさらにスクリーニングした。対数増殖期の融合細胞細胞を採取した。Trizol(Invitrogen、15596-018)でRNAを抽出し、逆転写(PrimeScript™逆転写酵素、Takaraカタログ番号2680A)に供した。マウスIg-開始剤セット(Novagen、TB326 Rev.B0503)を用いたPCRにより、逆転写により得られたcDNAを増幅した。最後に、マウス抗体M1の配列を得た。

20

【 0 1 2 3 】

マウスモノクローナル抗体M1の重鎖及び軽鎖可変領域配列は次の通りである。

M1 HCVR

QVQLQQSGAELVRPGASVKLSCKALGYSFSDYEMHWVRQTPVHGLEWIGGIHPGSGGSA
YNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRLDYGYSWAWFPYWGQGLTVT
VSA

配列番号: 1

30

M1 LCVR

EILLTQSPAIIVTSPGKVTITCSASSSVIYMNWYQQKPGSSPKIWIYGISNLASGVPARFS
GSGSGTSFSFTINSMEAEDVATYYCQQRSSYPLTFGAGTKLELK

配列番号: 2

【 0 1 2 4 】

表2 マウスモノクローナル抗体M1の重鎖及び軽鎖可変領域のCDR配列

名称	配列	番号
HCDR1	GYSFSDYEMH	配列番号: 3
HCDR2	GIHPGSGGSAYNQKFKG	配列番号: 4
HCDR3	TRLDYGYSWAWFPY	配列番号: 5
LCDR1	SASSSVIYMN	配列番号: 6
LCDR2	GISNLAS	配列番号: 7
LCDR3	QQRSSYPLT	配列番号: 8

40

【 0 1 2 5 】

50

実施例3：抗体のin vitro結合活性の検出方法

(1)In vitro間接ELISA結合アッセイ：

BCMA Hisタンパク質 (Sino Biological Inc.、カタログ番号10620-H08H) をpH7.4 PBSで1 µg/mlの濃度に希釈し、96ウェル高親和性ELISAプレートに100 µl/ウェルで添加し、4 の冷蔵庫に一晚 (16 ~ 20時間) インキュベートした。該プレートをPBST (0.05%Tween-20を含むpH7.4 PBS) で4回洗浄した後、PBSTで希釈した3%ウシ血清アルブミン (BSA) ブロッキング溶液を150 µl/ウェルで添加し、ブロッキングのために室温で1時間インキュベートした。ブロッキングが完了した後、ブロッキング溶液を廃棄し、プレートをPBST緩衝液で4回洗浄した。

【0126】

試験抗体を3%BSAを含むPBSTで10倍勾配希釈し (その初期濃度は、10倍希釈して1 µMとなった)、マイクロタイタープレートに100 µl/ウェルで添加し、室温で1時間インキュベートした。インキュベーション終了後、プレートをPBSTで4回洗浄した。3%BSAを含むPBSTで希釈したHRP標識ヤギ抗ヒト二次抗体 (Abcam、カタログ番号ab97225) を100 µl/ウェルで添加し、室温で1時間インキュベートした。プレートをPBSTで4回洗浄した後、TMB発色基質 (Cell Signaling Technology、カタログ番号7004S) を100 µl/ウェルで添加し、室温、暗所で1分間インキュベートした。停止液 (Cell Signaling Technology、カタログ番号7002S) を100 µl/ウェルで添加して反応を停止させた。マイクロプレートリーダー (BioTek、モデルSynergy H1) を用いて450 nmでの吸光度値を読み取った。該データを分析した。次の表に示すように、濃度-シグナル曲線をプロットして結果を分析した。

【0127】

表3 マウス抗体のヒトBCMA抗原に対する親和性 (EC₅₀値)

マウス抗体	ヒト BCMA His 抗原への結合の EC ₅₀ (nM)
M1	0.53

【0128】

(2)In vitro細胞結合アッセイ：

BCMA発現の高い培養細胞 (BCMAを過剰発現するHEK293T細胞 ; BCMAを発現する腫瘍細胞、NCI-H929、ATCC寄託番号CRL-9068) を採取した。細胞密度を調整し、該細胞を96ウェルU底プレートに1 × 10⁵ ~ 2 × 10⁵細胞/ウェルで播種した。該プレートを1200 gで5分間遠心分離し、上清を除去した。100 ulの勾配希釈された抗体溶液またはマウス免疫血清を添加し、4 で60分間インキュベートした。該プレートを1200 gで5分間遠心分離し、上清を除去した。該細胞をPBSで2回洗浄した。蛍光標識された二次抗体 (PE-GAMまたはPE-GAH) を100 ul/ウェルで添加し、4 で60分間インキュベートした。該プレートを1200 gで5分間遠心分離し、上清を除去した。該細胞をPBSで2回洗浄した後、PBSに再懸濁した。フローサイトメーターを用いてシグナルを検出し、結果分析のために濃度曲線をプロットした。

【0129】

表4 マウス抗体のBCMA発現細胞に対する親和性 (EC₅₀値)

マウス抗体	細胞への結合の EC ₅₀ (nM)	
	HEK293T/BCMA 細胞への結合の EC ₅₀ (nM)	NCI-H929 細胞への結合の EC ₅₀ (nM)
M1	115.3	128.2

【0130】

実施例4：マウス抗体のヒト化実験

当技術分野の多くの文献に公開されている方法に従って、マウス抗ヒトBCMAモノクローナル抗体のヒト化を実施した。簡単に説明すると、親（マウス抗体）の定常ドメインをヒトの定常ドメインに置き換えた。マウス抗体とヒト抗体との間の同一性に従って、ヒト生殖系列抗体配列を選択した。本開示において、マウス抗体M1をヒト化した。

【0131】

得られたマウス抗体のVH/VL CDRの典型的な構造に基づいて、重鎖及び軽鎖可変領域の配列をヒト抗体生殖系列データベースで整列させ、高い同一性を有するヒト生殖系列テンプレートを得た。

【0132】

マウス抗体M1のCDR領域を、選択した関連のヒト化テンプレートに移植した。次に、マウス抗体の三次元構造に基づいて、埋め込まれた残基、CDR領域と直接相互作用する残基、及びVL及びVHの立体配座に大きな影響を与える残基を逆突然変異に供し、化学的に不安定なCDR領域のアミノ酸残基を最適化した。発現試験と逆突然変異の数の比較の後、次のようにヒト化重鎖可変領域HCVRの配列を選択して設計した：

HCVR1

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFSDYEMHWVRQAPGQGLEWMGGIHPGSGGS
AYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCTRLDYGYSWAWFPYWGQGLT
VTVSA

配列番号：9

HCVR2

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFSDYEMHWVRQAPGQGLEWIGGIHPGSGGSA
YNQKFKGRVTLTVDKSTSTAYMESSLRSEDVAVYYCTRLDYGYSWAWFPYWGQGLT
TVSA

配列番号：10

HCVR3

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFSDYEMHWVRQAPGQGLEWIGGIHPGSGGSA
YNQKFKGKATLTVDKSTSTAYMESSLRSEDVAVYYCTRLDYGYSWAWFPYWGQGLT
TVSA

配列番号：11

【0133】

次のようにヒト化軽鎖可変領域LCVRの配列を選択して設計した：

LCVR1

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVIYMNWYQQKPGQAPRLLIYGISNLAGSIPARFS
GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIK

配列番号：12

LCVR2

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVIYMNWYQQKPGQSPKIWIYGISNLAGVPARF
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIK

配列番号：13

LCVR3

EILLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVIYMNWYQQKPGSSPKIWIYGISNLAGVPARFS
GSGSGTSFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIK

配列番号：14

【0134】

設計された重鎖及び軽鎖可変領域配列を、それぞれIgG1重鎖及び軽鎖定常領域配列に連結した。重鎖及び軽鎖定常領域配列の例は、それぞれ以下の通りである：

IgG1 C

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY

10

20

30

40

50

NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号: 22

Ig kappa C

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号: 23

【 0 1 3 5 】

該連結の後に得られた重鎖及び軽鎖配列の例は、以下の通りである :

10

Ab1 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFSDYEMHWVRQAPGQGLEWMGGIHPGSGGS
AYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCTRLDYGYSWAWFPYWGQGT
LTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号: 15

20

Ab2 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFSDYEMHWVRQAPGQGLEWIGGIHPGSGGSA
YNQKFKGRVTLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRLDYGYSWAWFPYWGQGT
LTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号: 16

30

Ab3 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFSDYEMHWVRQAPGQGLEWIGGIHPGSGGSA
YNQKFKGKATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRLDYGYSWAWFPYWGQGT
LTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号: 17

40

Ab1 LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVIYMNWYQQKPGQAPRLLIYGISNLAGIPARFS
GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号: 18

Ab2 LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVIYMNWYQQKPGQSPKIWIYGISNLAGV
PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKA

50

DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号: 19

Ab3 LC

EILLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVIYMNWYQQKPGSSPKIWIYGISNLAGVPARFS
GSGSGTSFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNFPYKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号: 20

【0136】

表5 重鎖、軽鎖及びそれらの可変領域の抗体及び配列番号

ヒト化抗体の番号	重鎖/軽鎖の番号	重鎖/軽鎖可変領域の番号
Ab1	配列番号: 15	配列番号: 9
	配列番号: 18	配列番号: 12
Ab2	配列番号: 16	配列番号: 10
	配列番号: 19	配列番号: 13
Ab3	配列番号: 17	配列番号: 11
	配列番号: 20	配列番号: 14

【0137】

上記の各ヒト化抗体の軽鎖及び重鎖のアミノ酸配列に従って、cDNA断片を合成し、pcDNA3.1発現ベクター (Life Technologies、カタログ番号V790-20) に挿入した。該発現ベクターを遺伝子導入試薬PEI (Polysciences, Inc.、カタログ番号23966) と1:2の比率で用いて、HEK293細胞 (Life Technologies、カタログ番号11625019) を遺伝子導入した。該細胞をCO₂インキュベーター内で4~5日間インキュベートした。細胞培養液を収集し、遠心分離し、濾過した。次に、サンプルを抗体精製アフィニティーカラムに負荷した。該カラムをリン酸緩衝液で洗浄した。グリシン-塩酸緩衝液 (pH2.7、0.1M Gly-HCl) でサンプルを溶出し、1Mトリス塩酸pH9.0で中和し、リン酸緩衝液に対して透析し、本開示のヒト化抗体タンパク質を得た。

【0138】

実施例5: In vitro結合親和力及び動態学的アッセイ

実施例3(1)に従ったin vitro間接ELISA結合アッセイを用いて、ヒトBCMA抗原に対する各ヒト化抗体の親和性 (EC₅₀) を測定し、その結果は以下の表6に示される通りである。

表6 ヒトBCMA抗原に対する各ヒト化抗体の親和性 (EC₅₀)

ヒト化抗体	抗原	親和性 EC ₅₀ (nM)
Ab1	BCMA-His	0.022
Ab2		0.033
Ab3		0.034

【0139】

実施例3(2)に従ったin-vitro細胞結合アッセイを用いて、NCI-H929腫瘍細胞に対する各ヒト化抗体の親和性 (EC₅₀) を測定し、その結果は以下の表7に示される通りである。

表7 NCI-H929腫瘍細胞に対する各ヒト化抗体の親和性 (EC₅₀)

10

20

30

40

50

ヒト化抗体	細胞	親和性 EC ₅₀ (nM)
Ab1	NCI-H929	4.6
Ab2		3.5
Ab3		3.9

【0140】

実施例6：抗体の形質膜陥入

NCI-H929 (ATCC寄託番号CRL-9068)を用いて、本開示の抗体が、BCMAに結合した後ヒトBCMAと共に細胞に形質膜陥入され得るかどうかを評価した。NCI-H929細胞を(37℃で約2分間PBSで1回洗浄した後)トリプシンで温浸し、採取し、予冷したFACS緩衝液に再懸濁した。細胞濃度を 1×10^6 細胞/mLに調整した。1 mLの細胞懸濁液をEPチューブに加え、1500 rpmで5分間遠心分離し、上清を除去した。試験する調製済みの抗体1 mLを添加して細胞を再懸濁し、該抗体の最終濃度は20 µg/mlであった。該細胞をシェーカー中、4℃で1時間インキュベートし、遠心分離し(4℃、1500 rpm×5分間)、上清を廃棄した。該細胞をFACS緩衝液で2回洗浄し、上清を除去した。100 µLの蛍光二次抗体ワーキング溶液を各チューブに加え、細胞を再懸濁した。該細胞をシェーカー中、4℃で30分間インキュベートし、遠心分離し(4℃、1500 rpm×5分間)、上清を廃棄した。該細胞をFACS緩衝液で2回洗浄し、上清を除去した。予熱したNCI-H929細胞完全培地1.0 mLを各チューブに加え、細胞を再懸濁し、十分に混合した。該細胞懸濁液を4本のチューブに分注し、200 µL/チューブで、それぞれ0分間のグループ、ブランクのグループ、30分間のグループ、及び2時間のグループとした。0分間のグループ及びブランクのグループを氷上に放置し、残りのグループを形質膜陥入のためにそれぞれ37℃のインキュベーターに30分間及び2時間放置した。対応する時点で、EPチューブを取り出し、氷上に放置して5分間予冷した。全ての処理グループを遠心分離し(4℃、1500 rpm×5分間)、上清を廃棄した。細胞をFACS緩衝液で1回洗浄し、上清を除去した。250 µLのストリップ緩衝液を、0分間のグループを除く全ての処理グループのEPチューブに加えた。細胞を室温で8分間インキュベートし、遠心分離し(4℃、1500 rpm×5分間)、上清を廃棄した。細胞をFACS緩衝液で2回洗浄し、上清を除去した。全ての処理グループに100 µLの固定液を加え、免疫染色のために4℃で30分間以上放置し、フローサイトメーターDxFlexで検出した。BCMA抗体形質膜陥入の百分率(%)=(各時点での蛍光強度値-ブランクのグループの平均蛍光強度値)/(ゼロ点での平均蛍光強度値-ブランクのグループの平均蛍光強度値)。その結果を以下の表8に示す。

表8 抗体のNCI-H929腫瘍細胞への形質膜陥入(EC₅₀)

ヒト化抗体	細胞	形質膜陥入の効率%	
		0.5 時間	2 時間
Ab1	NCI-H929	36.6	49.5
Ab2		36.7	48
Ab3		35.5	45.7
J6M0		ND	38.9

ND=未測定

【0141】

該結果に示されたように、本開示の抗体が、抗BCMA抗体J6M0(米国特許第9,273,14

10

20

30

40

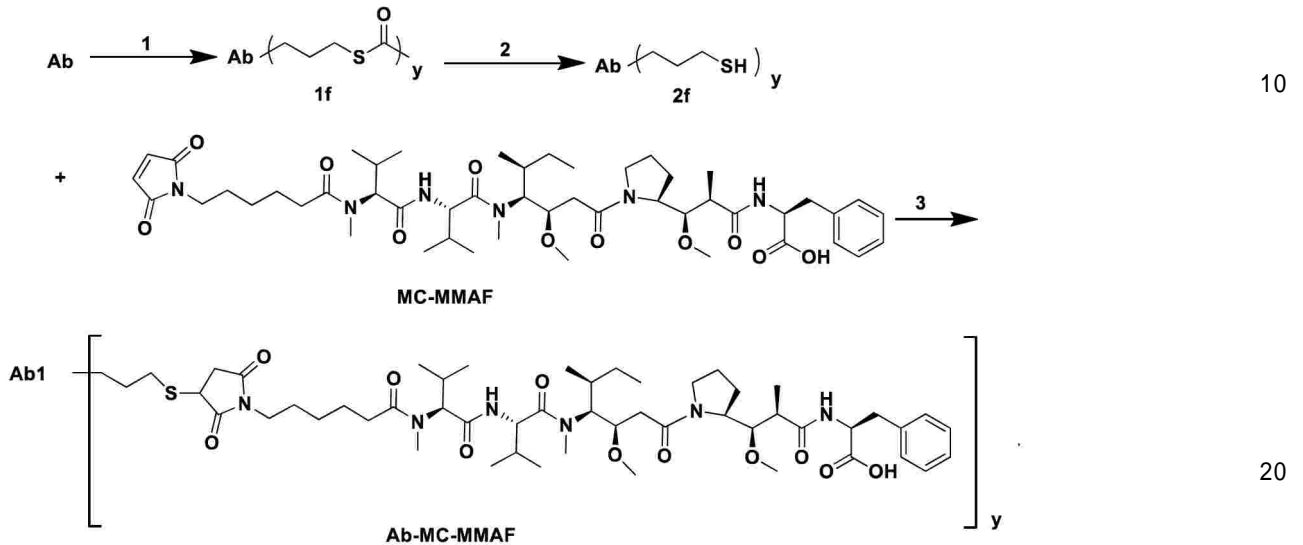
50

1号に記載)と比べて、より高い形質膜陥入効率を有する。

【0142】

実施例7：抗体のMC-MMAFへの抱合

本開示の抗体は、細胞親和性活性及び形質膜陥入活性を有するため、薬物と結合してBCMA媒介性の疾患を治療するための抗体-薬物抱合体を形成するのに適している。本開示の抗体は、MC-MMAFと結合して、抗体-薬物抱合体を形成した。該結合のプロセスを次の式で示し、式中、AbがAb2またはAb3抗体を表す。



【0143】

第1ステップでは、S-(3-ヒドロキシプロピル)チオアセテート(0.7 mg、5.3 mol)を後で使用するために0.9 mLのアセトニトリル溶液に溶解した。S-(3-ヒドロキシプロピル)チオアセテートを含む上記の調製済みアセトニトリル溶液を、抗体を含む酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液pH=4.3(10.35 mg/mL、9.0 mL、0.97 mol)に加えた。次に、シアノ水素化ホウ素ナトリウム(14.1 mg、224 mol)を含む水溶液1.0 mLを滴下し、25 °Cで2時間振とうしながら反応させた。該反応が完了した後、該反応混合物を脱塩し、Sephadex G25ゲルカラムを用いて精製(溶出相：0.05M PBS溶液、pH6.5)し、生成物1fを含む溶液を得た。該溶液を10 mg/mLに濃縮し、次の反応に直接に用いた。

30

【0144】

第2ステップでは、0.35 mLの2.0Mカルボキサミド塩酸塩溶液を1fの溶液(11.0 mL)に加え、25 °Cで30分間振とうしながら反応させた。次に、該反応溶液を脱塩し、Sephadex G25ゲルカラムを用いて精製(溶出相：0.05 M PBS溶液、pH6.5)し、生成物2fを含む溶液(濃度6.17 mg/mL、14.7 mL)を得た。

【0145】

第3ステップでは、化合物MC-MMAF(1.1 mg、1.2 mol、PCT特許WO2005081711に開示の方法で調製)を0.3 mLのアセトニトリルに溶解し、2fの溶液(濃度6.17 mg/mL、3.0 mL)に加え、25 °Cで4時間振とうしながら反応させた。次に、該反応溶液を脱塩し、Sephadex G25ゲルカラムを用いて精製(溶出相：0.05M PBS溶液、pH6.5)し、フィルターを用いて滅菌条件下で濾過し、生成物Ab2-MC-MMAFを得た。HIC-HPLCで測定した生成物Ab2-MC-MMAFのDARの平均値yは4であった。PBS緩衝液中の該抗体-薬物抱合体(3.7 mg/mL、4.7 mL)を4 °Cで冷蔵した。生成物Ab3-MC-MMAFを上記の方法で調製した。HIC-HPLCで測定した生成物Ab3-MC-MMAFのDARの平均値yは4.1であった。PBS緩衝液中の該抗体-薬物抱合体(3.5 mg/mL、5.0 mL)を4 °Cで冷蔵した。

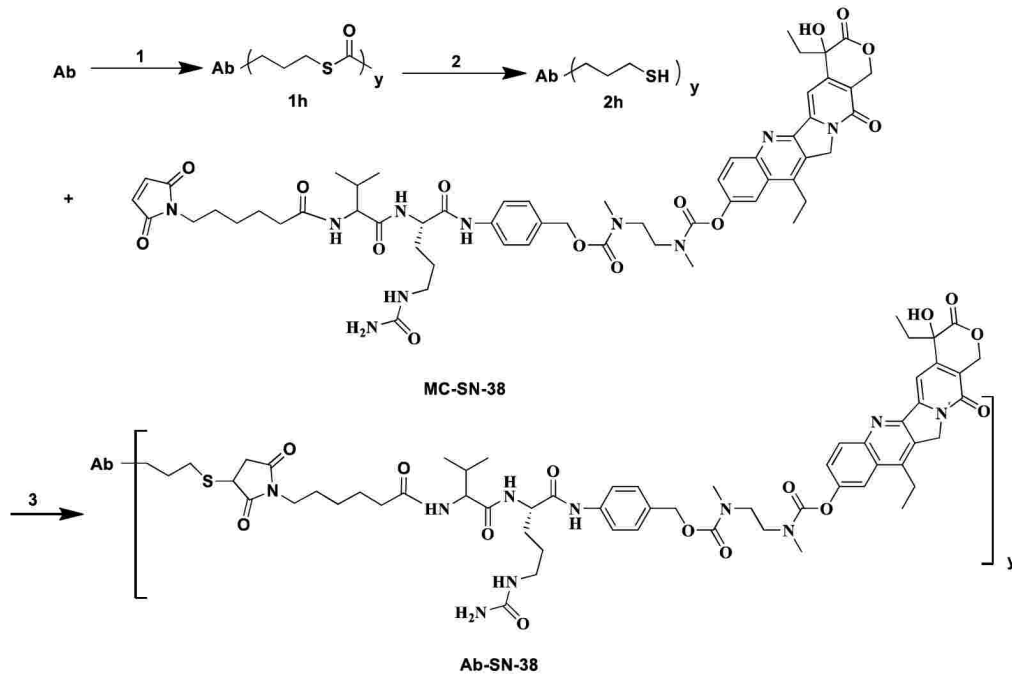
40

【0146】

実施例8：抗体のSN-38への抱合

以下の結合プロセスで抗体を抱合した薬物を調製した。式中、AbがAb2を表す。

50



10

【 0 1 4 7 】

20

第1ステップでは、S-(3-ヒドロキシプロピル)チオアセテート (0.7 mg、5.3 mol) を後で使用するために0.9 mLのアセトニトリル溶液に溶解した。S-(3-ヒドロキシプロピル)チオアセテートを含む上記の調製済みアセトニトリル溶液を、抗体を含む酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液pH=4.3 (10.35 mg/mL、9.0 mL、0.97 mol) に加えた。次に、シアノ水素化ホウ素ナトリウムを含む水溶液 (14.1 mg、224 mol) 1.0 mLを滴下し、25 °Cで2時間振とうしながら反応させた。該反応が完了した後、反応混合物を脱塩し、Sephadex G25ゲルカラムを用いて精製 (溶出相: 0.05M PBS溶液、pH6.5) し、生成物1hを含む溶液を得た。該溶液を10 mg/mLに濃縮し、次の反応に直接に用いた。

【 0 1 4 8 】

30

第2ステップでは、0.35 mLの2.0Mカルボキサミド塩酸塩溶液を1hの溶液 (11.0 mL) に加え、25 °Cで30分間振とうしながら反応させた。次に、該反応溶液を脱塩し、Sephadex G25ゲルカラムを用いて精製 (溶出相: 0.05M PBS溶液、pH6.5) し、生成物2hを含む溶液 (濃度6.2 mg/mL、15.0 mL) を得た。該溶液を約10 mg/mLに濃縮し、次の反応に用いた。

【 0 1 4 9 】

40

第3ステップでは、化合物MC-SN-38 (1.3 mg、1.2 mol) を0.3 mLのアセトニトリルに溶解し、2hの溶液 (濃度6.2 mg/mL、3.0 mL) に加え、25 °Cで4時間振とうしながら反応させた。次に、該反応溶液を脱塩し、Sephadex G25ゲルカラムを用いて精製 (溶出相: 0.05M PBS溶液、pH6.5) し、そして、フィルターを用いて滅菌条件下で濾過し、PBS緩衝液中の生成物Ab-SN-38抗体薬物抱合体 (3.7 mg/mL、4.7 mL) を得て、これを4 °Cで冷蔵した。その平均値yを紫外線法で測定した。コハク酸ナトリウム緩衝液を満たしたキュベットをそれぞれ参照用の吸収セル及びサンプル測定の吸収セルに入れ、溶媒ブランクを差し引いた後、試験溶液を満たしたキュベットをサンプル測定の吸収セルに入れた。280 nm及び370 nmでの吸光度を計測した。

【 0 1 5 0 】

データ処理:

検量線を作成し、波長280 nmでの吸光度を計測することにより、抗体含有量C_{mab}を測定した。波長370 nmでの吸光度を計測することにより、小分子含有量C_{Drug}を測定した。

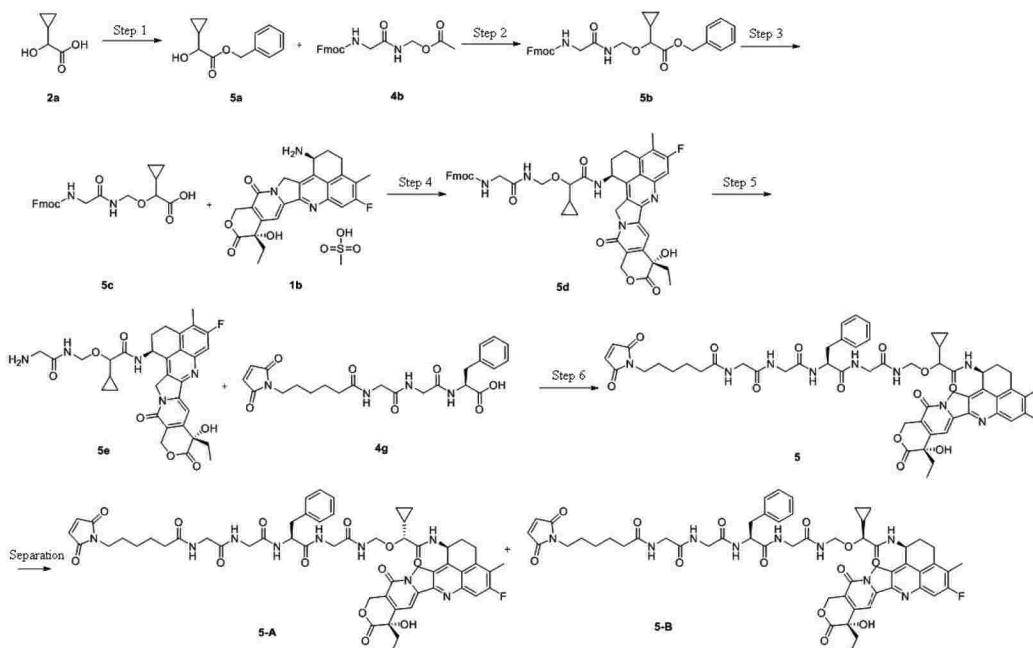
薬物負荷の平均値 $y = C_{Drug}/C_{mab}$

50

上記の方法で測定した抗体-薬物抱合体Ab2-SN-38のDARの平均値 y は3.9であった。

【0151】

実施例9：抗体のエキサテカンへの抱合



10

20

【0152】

第1ステップでは、2a (2 g、17.2 mmol) を75 mLのアセトニトリルに溶解し、炭酸カリウム (9.27 g、67.2 mmol)、臭化ベンジル (20 mL、167.2 mmol) 及びヨウ化テトラブチルアンモニウム (620 mg、1.68 mmol) を連続して加えた。反応溶液を室温で48時間攪拌し、珪藻土を通して濾過した。フィルターケーキを酢酸エチル (20 ml) ですすいだ。濾液をプールのし、減圧下で濃縮した。得られた残留物を、展開溶媒系Cを用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、生成物5a (3.2 g、収率：90.1%) を得た。

30

【0153】

第2ステップでは、5a (181.3 mg、0.879 mmol) 及び4b (270 mg、0.733 mmol) を反応フラスコに加えた。6 mLのテトラヒドロフランを加えた。反応混合物をアルゴンで3回交換し、氷水浴中で0~5℃に冷却した。カリウムtert-ブトキシド (164 mg、1.46 mmol) を加えた。氷浴を撤去し、反応混合物を室温に加熱し、40分間攪拌した。15 mLの氷水を加え、反応混合物を酢酸エチル (40 mL x 2) 及びクロロホルム (20 mL x 5) で抽出した。有機相をプールのし、濃縮した。得られた残留物を6 mLのジオキサンに溶解し、3 mLの水、重炭酸ナトリウム (73.8 mg、0.879 mmol) 及び9-フルオレニルメチルクロロホルメート (190 mg、0.734 mmol) を加え、室温で2時間攪拌した。30 mLの水を加え、反応混合物を酢酸エチル (20 mL x 3) で抽出した。有機相を飽和塩化ナトリウム溶液 (30 mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。濾液を減圧下で濃縮した。得られた残留物を、展開溶媒系Cを用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、生成物5bベンジル10-シクロプロピル-1-(9H-フルオレン-9-イル)-3,6-ジオキソ-2,9-ジオキサ-4,7-ジアザウンデカ-11-カルボキシレート (73 mg、収率：19.4%) を得た。

40

MS m/z (ESI): 515.0 [M+1].

【0154】

第3ステップでは、5b (30 mg、0.058 mmol) を6.75 mLのテトラヒドロフランと酢酸エチルとの混合溶媒 (V : V = 2 : 1) に溶解した。パラジウム炭素 (18 mg、含量10%

50

、乾燥品)を加え、反応混合物を水素で3回交換し、室温で1時間攪拌しながら反応させた。反応溶液を珪藻土で濾過した。フィルターケーキを酢酸エチルですすいだ。濾液を濃縮し、粗生成物5c 10-シクロプロピル-1-(9H-フルオレン-9-イル)-3,6-ジオキソ-2,9-ジオキサ-4,7-ジアザウンデカ-11-酸(20 mg)を得て、これを精製せずに次の反応に直接に用いた。

MS m/z (ESI) : 424.9 [M+1].

【0155】

第4ステップでは、1b(15 mg、28.2 μmol)を反応フラスコに加えた。1.5 mLのN,N-ジメチルホルムアミドを加えた。反応混合物をアルゴンで3回交換し、氷水浴中で0~5に冷却した。トリエチルアミンを一滴加え、粗生成物5c(20 mg、47.1 μmol)を加え、4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルクロロモルホリン(25.4 mg、86.2 μmol)を加え、反応混合物を氷浴中で40分間攪拌しながら反応させた。15 mLの水を加え、反応混合物を酢酸エチル(20 mL×3)で抽出した。有機相をプールした。有機相を塩化ナトリウム飽和溶液(20 mL×2)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。濾液を減圧下で濃縮した。得られた残留物を、展開溶媒系Bを用いた薄層クロマトグラフィーにより精製し、表題生成物5d(9H-フルオレン-9-イル)メチル(2-(((1-シクロプロピル-2-(((1S,9S)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシル-4-メチル-10,13-ジオキソ-2,3,9,10,13,15-ヘキサヒドロ-1H,12H-ベンゾ[de]ピラノ[3',4':6,7]インドロジノ[1,2-b]キノリン-1-イル)アミノ)-2-オキソエトキシ)メチル)アミノ)-2-オキソエチル)カルバメート(23.7 mg、収率:78.9%)を得た。

MS m/z (ESI) : 842.1 [M+1].

【0156】

第5ステップでは、5d(30 mg、35.7 μmol)を3 mLのジクロロメタンに溶解した。1.5 mLのジエチルアミンを加え、反応混合物を室温で2時間攪拌した。反応溶液を減圧下で濃縮した。1.5 mLのトルエンを加え、反応混合物を減圧下で濃縮し、2回繰り返した。4.5 mLのn-ヘキサンを残留物に加え、ホモジナイズした。静止させた後、上清を注ぎ出し、固形物が残留した。該固体残留物を減圧下で濃縮し、ポンプで乾燥させ、粗生成物5e 2-((2-アミノアセトアミド)メトキシ)-2-シクロプロピル-N-((1S,9S)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシル-4-メチル-10,13-ジオキソ-2,3,9,10,13,15-ヘキサヒドロ-1H,12H-ベンゾ[de]ピラノ[3',4':6,7]インドロジノ[1,2-b]キノリン-1-イル)アセトアミド(23 mg)を得て、これを精製せずに次の反応に直接に用いた。

MS m/z (ESI) : 638.0 [M+18].

【0157】

第6ステップでは、粗生成物5e(20 mg、32.3 μmol)を1 mLのN,N-ジメチルホルムアミドに溶解し、アルゴンで3回交換した。反応混合物を氷水浴中で0~5に冷却した。0.5 mLの4g N,N-ジメチルホルムアミド溶液(31.8 mg、67.3 μmol)を加え、4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルクロロモルホリン(27.8 mg、94.3 μmol)を加え、氷浴中で10分間攪拌しながら反応させた。氷浴を撤去し、反応混合物を室温に加熱し、攪拌しながら1時間反応させて、化合物5を生成した。該反応液を高速液体クロマトグラフィーで精製(分離条件:カラム:XBridge Prep C18 OBD 5 μm 19*250 mm;移動相:A-水(10 mmol NH₄OAc):B-アセトニトリル、グラジエント溶出、流速:18 mL/min)した。対応する成分を収集し、減圧下で濃縮し、生成物5-A及び5-B(3.6 mg、2.6 mg)を得た。

MS m/z (ESI) : 1074.4 [M+1].

【0158】

単一構成化合物5-A(より短い保持時間を有するもの):

UPLC分析:保持時間:1.14分、純度:85%(カラム:ACQUITY UPLC BEHC18 1.7 μm 2.1*50 mm、移動相:A-水(5 mmol NH₄OAc)、B-アセトニトリル)。

10

20

30

40

50

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.60 (t, 1H), 8.51-8.49 (d, 1H), 8.32-8.24 (m, 1H), 8.13-8.02 (m, 2H), 8.02-7.96 (m, 1H), 7.82-7.75 (m, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.26-7.15 (m, 4H), 6.99 (s, 1H), 6.55-6.48 (m, 1H), 5.65-5.54 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.35-5.15 (m, 3H), 4.74-4.62 (m, 2H), 4.54-4.40 (m, 2H), 3.76-3.64 (m, 4H), 3.62-3.48 (m, 2H), 3.20-3.07 (m, 2H), 3.04-2.94 (m, 2H), 2.80-2.62 (m, 2H), 2.45-2.30 (m, 3H), 2.25-2.15 (m, 2H), 2.15-2.04 (m, 2H), 1.93-1.78 (m, 2H), 1.52-1.39 (m, 3H), 1.34-1.12 (m, 5H), 0.87 (t, 3H), 0.64-0.38 (m, 4H).

10

0.87 (t, 3H), 0.64-0.38 (m, 4H)

【 0 1 5 9 】

単一構成化合物5-B (より長い保持時間を有するもの) :

UPLC分析 : 保持時間 : 1.16分、純度 : 89% (カラム : ACQUITY UPLC BEHC18 1.7 μm 2.1*50 mm、移動相 : A-水 (5 mmol NH_4OAc)、B-アセトニトリル)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.68-8.60 (m, 1H), 8.58-8.50 (m, 1H), 8.32-8.24 (m, 1H), 8.13-8.02 (m, 2H), 8.02-7.94 (m, 1H), 7.82-7.75 (m, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.26-7.13 (m, 4H), 6.99 (s, 1H), 6.55-6.48 (m, 1H), 5.60-5.50 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.35-5.15 (m, 3H), 4.78-4.68 (m, 1H), 4.60-4.40 (m, 2H), 3.76-3.58 (m, 4H), 3.58-3.48 (m, 1H), 3.20-3.10 (m, 2H), 3.08-2.97 (m, 2H), 2.80-2.72 (m, 2H), 2.45-2.30 (m, 3H), 2.25-2.13 (m, 2H), 2.13-2.04 (m, 2H), 2.03-1.94 (m, 2H), 1.91-1.78 (m, 2H), 1.52-1.39 (m, 3H), 1.34-1.12 (m, 5H), 0.91-0.79 (m, 3H), 0.53-0.34 (m, 4H)

20

【 0 1 6 0 】

他の中間体の調製方法は、中間体5の調製方法を参照した。

【 0 1 6 1 】

37 で、調製されたトリス (2-カルボキシエチル) ホスフィンを含む水溶液 (10 mM、0.347 mL、3.47 μmol) を、抗体Ab2を含むPBS緩衝水溶液 (pH6.5、0.05 M PBS緩衝水溶液; 7.3 mL、13.8 mg/mL、0.681 μmol) に加えた。反応混合物を水浴シェーカーに放置し、37 で3時間振とうしながら反応させた。該反応を停止させ、反応溶液を水浴中で25 に冷却し、14.0 mLに希釈し、次の反応のために3.3 mLの溶液を取り出した。

30

【 0 1 6 2 】

化合物5-A (3.0 mg、3.72 μmol) を0.15 mLのDMSOに溶解し、上記の溶液3.3 mLに加えた。反応混合物を水浴シェーカーに放置し、25 で3時間振とうしながら反応させた。該反応を停止させた。反応溶液を脱塩し、Sephadex G25ゲルカラムを用いて精製 (溶出相 : pH6.5、0.05 M PBS緩衝水溶液、0.001 M EDTAを含む) し、PBS緩衝液中の例示的な生成物Ab-エキサテカン及びAb2-エキサテカン (1.35 mg/mL、13 mL) を得て、4 で凍結保存した。

40

【 0 1 6 3 】

その平均値 y を紫外線法で測定した。コハク酸ナトリウム緩衝液を満たしたキュベットをそれぞれ参照用の吸収セル及びサンプル測定の吸収セルに入れ、溶媒ブランクを差し引いた後、試験溶液を満たしたキュベットをサンプル測定の吸収セルに入れた。280 nm及び370 nmでの吸光度を計測した。

【 0 1 6 4 】

データ処理 :

検量線を作成し、波長280 nmでの吸光度を計測することにより、抗体含有量C_{mab}を

50

測定した。波長370 nmでの吸光度を計測することにより、小分子含有量CDrugを測定した。

薬物負荷の平均値 $y = \text{CDrug}/\text{Cmab}$ 。

例示的な生成物Ab2-エキサテカンについて上記の方法で測定した結果、yが7.6であった。UV-HPLC精製により、Ab2-エキサテカンのサンプル (y = 8) を得た。

【 0 1 6 5 】

実施例10：抗体-薬物抱合体の腫瘍殺傷活性

抗体-薬物抱合体のIn-vivoで形成された腫瘍に対する殺傷効果をさらに調べるために、マウスにおいて、NCI-H929細胞で移植された腫瘍を形成し、本開示の抗体-薬物抱合体の抗腫瘍効果を評価した。

【 0 1 6 6 】

(1) 9×10^6 個のNCI-H929細胞を8週齢の免疫不全ヌードマウス(NOD-SCID)に皮下注射した。8日後、抗体-薬物抱合体Ab2-MC-MMAF(実施例7、y=4)及びAb2-エキサテカン(実施例9、y=8)の静脈内注射を週に1回、1 mg/kgの用量で開始した。ヒトIgG1タンパク質を対照として1 mg/kgの用量で使用した。対照群及び投与群にそれぞれ5匹のマウスが用いられた。腫瘍体積を計測して、腫瘍抑制率を計算した。腫瘍抑制率 = $100\% - (14日目の投与群の腫瘍体積 - 0日目の投与群の腫瘍体積) / (14日目の対照群の腫瘍体積 - 0日目の対照群の腫瘍体積)$ 。実験結果は表9の通りである。抗体-薬物抱合体Ab2-MC-MMAF(実施例7、y=4)及びAb2-エキサテカン(実施例9、y=8)は、いずれも腫瘍阻害効果を示している。

表9 抗体-薬物抱合体の腫瘍殺傷活性

投与群	腫瘍抑制率
Ab2-MC-MMAF (実施例7, y=4) 1 mg/kg	29.9%
Ab2-Exatecan (実施例9, y=8) 1 mg/kg	61.1%

【 0 1 6 7 】

(2) 9×10^6 個のNCI-H929細胞を8週齢の免疫不全ヌードマウス(NOD-SCID)に皮下注射した。8日後、抗体-薬物抱合体Ab2-MC-MMAF(実施例7、y=4)及びAb3-MC-MMAF(実施例7、y=4.1)の静脈内注射を週に2回、3 mg/kgの用量で開始した。ヒトIgG1タンパク質を対照として3 mg/kgの用量で使用した。対照群と投与群にそれぞれ5匹のマウスが用いられた。腫瘍体積を計測して、腫瘍抑制率を計算した。腫瘍抑制率TGI = $100\% - (14日目の投与群の腫瘍体積 - 0日目の投与群の腫瘍体積) / (14日目の対照群の腫瘍体積 - 0日目の対照群の腫瘍体積)$ 。実験結果は表10の通りである。Ab2-MC-MMAF(実施例7、y=4)及びAb3-MC-MMAF(実施例7、y=4.1)は、いずれも腫瘍に対する殺傷効果を示している。

表10 抗体-薬物抱合体の腫瘍殺傷活性

投与群	腫瘍抑制率TGI
Ab2-MC-MMAF (実施例7, y=4) 3 mg/kg	192%
Ab3-MC-MMAF (実施例7, y=4.1) 3 mg/kg	175%

【 配列表 】

0007627258000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I		
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	U
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
		C 1 2 N	15/13	
		C 1 2 N	15/63	Z
		C 1 2 P	21/08	

弁理士法人謝国際特許商標事務所

(72)発明者 フー、ハイチン

中華人民共和国シャanghai 201203 ジャンジャン ハイテクパーク ジンクウア ロード ナン
バー 3728 ビルディング2

(72)発明者 バオ、ルディ

中華人民共和国シャanghai 201203 ジャンジャン ハイテクパーク ジンクウア ロード ナン
バー 3728 ビルディング2

審査官 上條 のぶよ

(56)参考文献 特表2014-520088(JP,A)
 特表2019-512464(JP,A)
 国際公開第2019/025983(WO,A1)
 国際公開第2018/115466(WO,A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 0 7 K 1 6 / 0 0 - 4 6
 C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 9 0
 C 1 2 N 5 / 1 0
 C 1 2 N 1 / 0 0 - 3 8
 C 1 2 P 2 1 / 0 0 - 0 8
 A 6 1 K 3 9 / 3 9 5
 A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 6 9
 A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 5 8
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
 C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
 G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q