

【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22年6月17日(2010.6.17)

【公表番号】特表2009-519720(P2009-519720A)

【公表日】平成21年5月21日(2009.5.21)

【年通号数】公開・登録公報2009-020

【出願番号】特願2008-546030(P2008-546030)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	16/24	(2006.01)
C 1 2 N	15/02	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	19/02	(2006.01)
A 6 1 P	19/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/00	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	21/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	11/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	9/10	(2006.01)
A 6 1 P	1/16	(2006.01)
A 6 1 P	17/02	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 0 7 K	16/24	
C 1 2 N	15/00	C
A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	19/00	
A 6 1 P	37/00	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	17/02	

G 0 1 N 33/53  
C 1 2 P 21/08

P

**【手続補正書】**

【提出日】平成22年4月5日(2010.4.5)

**【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】**

ヒトTNF- $\alpha$ に結合し、イムノグロブリン重鎖または軽鎖可変ドメインを含み、前記可変ドメインが新世界ザルに由来する配列を有する少なくとも1種類の相補性決定領域(CDR)を含み、前記CDRが、AATKLQS(配列番号1)、EASSLQS(配列番号2)、EASKLQS(配列番号3)、およびSASNLET(配列番号4)からなる群より選択される、組換えドメイン抗体(dAb)。

**【請求項2】**

前記CDRがCDR2である、請求項1に記載の組換えdAb。

**【請求項3】**

D1QMTQSPSSLSASVGDRVT1TCRASQS1DSYLHWYQQKPGKAPKLL1YSASNLETGVPSRFSGSQGTDFTLT1SSLQP  
EDFATYYCQQVWWRPFTFGQGKTVE1KR(配列番号7)；

D1QMTQSPSSLSASVGDRVT1TCRASQA1DSYLHWYQQKPGKAPKLL1YSASNLETGVPSRFSGSQGTDFTLT1SSLQP  
EDFATYYCQQVWWRPFTFGQGKTVE1KR(配列番号8)；

D1QMTQSPSSLSASVGDRVT1TCRASQS1DSYLHWYQQKPGKAPKLL1YSASNLETGVPSRFSGSQGTDFTLT1SSLQP  
EDFATYYCQQVWWRPFTFGQGKTVE1KR(配列番号9)；

D1QMTQSPSSLSASVGDRVT1TCRASQA1DSYLHWYQQKPGKAPKLL1YSASNLETGVPSRFSGSQGTDFTLT1SSLQP  
EDFATYYCQQVWWRPFTFGQGKTVE1KR(配列番号10)；

D1QMTQSPSSLSASVGDRVT1TCRASQS1DSYLHWYQQKPGKPPKLL1YSASNLETGVPSRFSGSQGTDFTLT1SSLQP  
EDFATYYCQQVWWRPFTFGQGKTVE1KR(配列番号50)；

D1QMTQSPSSLSASVGDRVT1TCRASQS1DSYLHWYQQKPGKAPKLL1YSASNLETGVPSRFSGRGSQGTDFTLT1SSLQP  
EDFATYYCQQVWWRPFTFGQGKTVE1KR(配列番号51)；および

D1QMTQSPSSLSASVGDRVT1TCRASQS1DSYLHWYQQKPGKAPKLLYSASNLETGVPSRFSGRGSQGTDFTLT1SSLPE  
DFATYYCQQVWWRPFTFGQGKTVE1KR(配列番号52)；

からなる配列より選択される配列を有する、請求項1または2に記載の組換えdAb。

**【請求項4】**

D1QMTQSPSSLSASVGDRVT1TCRASQA1DSYLHWYQQKPGKAPKLL1YSASNLETGVPS  
RFSGSGSGTDFTLT1SSLPEDFATYYCQQVWWRPFTFGQGKTVE1KR(配列番号10)；

の配列を有する、請求項3に記載の組換えdAb。

**【請求項5】**

CDR1および/またはCDR3を改変して抗原結合を改善する、請求項1から4のいずれか一項に記載の組換えdAb。

**【請求項6】**

ヒトで低い免疫原性を有する、請求項1から5のいずれか一項に記載の組換えdAb。

**【請求項7】**

請求項1から6のいずれか一項に記載のdAbをコードする、単離核酸分子。

**【請求項8】**

請求項1から6のいずれか一項に記載の組換えドメイン抗体(dAb)を有効量、薬剤として許容しうる担体または希釈剤とともに含む、薬剤組成物。

**【請求項9】**

請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の組換えdAb有効量と試料を接触させること、および結合したdAbの量を検出することを含む、試料中のヒトTNF- $\alpha$ を検出する方法。

【請求項 1 0】

前記試料が生物試料である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 1】

請求項 8 に記載の薬剤組成物の有効量をヒト被験者に投与することを含む、前記被験者のヒトTNF- $\alpha$ 活性により特徴づけられる疾病を治療する方法。

【請求項 1 2】

ヒトTNF- $\alpha$ 活性により特徴づけられる疾病が、

炎症、炎症疾患、ならびに敗血症性ショック、内毒素性ショック、グラム陰性菌敗血、および有毒ショック症候群を含む敗血症；関節リウマチ、リウマチ性脊椎炎、変形性関節症、および痛風性関節炎を含む自己免疫疾患、アレルギー、多発性硬化症、自己免疫性糖尿病、自己免疫性ブドウ膜炎、およびネフローゼ症候群；感染による発熱および筋肉症を含む伝染病、ならびに感染に続いている悪液質；移植片対宿主拒絶反応；腫瘍増殖または転移；成人呼吸窮迫症候群、ショック肺、慢性肺炎症性疾患、肺サルコイドーシス、肺線維症、および珪肺症を含む肺疾患；クローアン病および潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患；心臓疾病；炎症性骨疾病、肝炎、凝固障害、火傷、再発流傷害、ケロイド形成、および瘢痕組織形成

からなる群より選択される、請求項 1 1 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 0 1 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 1】

<発明の概要>

第一の態様において、ヒトTNF- $\alpha$ に結合する組換えドメイン抗体(dAb)を本発明は提供し、前記dAbはイムノグロブリン重鎖または軽鎖可変ドメインを含み、前記可変ドメインは新世界ザルに由来する配列を有する少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含み、ここで前記CDRは、AATKLQS (配列番号 1 )、EASSLQS (配列番号 2 )、EASKLQS (配列番号 3 )、SASNLET (配列番号 4 )からなる群より選択される。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 6】

第一の態様において、ヒトTNF- $\alpha$ に結合する組換えドメイン抗体(dAb)を本発明は提供し、前記dAbはイムノグロブリン重鎖または軽鎖可変ドメインを含み、前記可変ドメインは新世界ザルに由来する配列を有する少なくとも1種類の相補性決定領域(CDR)を含み、ここで前記CDRは、AATKLQS (配列番号 1 )、EASSLQS (配列番号 2 )、EASKLQS (配列番号 3 )、SASNLET (配列番号 4 )からなる群より選択される。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 3 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 8】

本発明の好ましいある実施態様において、以下のdAb (化合物 1 4 5 と示される)を生産するために、dAbアクセプター配列のCDR2配列SASELQS (配列番号 4 9 )を置換するよ

うに、マー モセッ ト CDR配列 SASNLET (配列番号4) がdAbアクセプター配列に移植される  
:

< 化合物 1 4 5 >

D1QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS1DSYLHWYQQKPGKAPKLL1YSASNLETGVPSRFGSGSGTDFTLT1SSLQP  
EDFATYYCQQVWRPFTFGQGTKVEIKR (配列番号7)

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 8 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 8 0】

4つのCDR配列、すなわちフクロウサル配列1(配列番号42)からのAATKLQS(配列番号1)、フクロウサル配列2(配列番号43)からのEASSLQS(配列番号2)、マー モセッ ト配列1(配列番号25)からのEASKLQS(配列番号3)、マー モセッ ト配列2(配列番号26)からのSASNLET(配列番号4)が、図2に説明されて示されるアミノ酸配列より選択された。フクロウサル配列5、YASSLQS(配列番号48)が、アオテュス・ナンサイニアエ(Aotus nancyinae)(マのヨザル、Ma's night monkey)cDNA配列と同一であることが発見され、他の全ての配列は独自のものであった。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 9 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 9 2】

【図1】アクセプターdAbのアミノ酸(配列番号6)、およびヌクレオチド配列(配列番号5)を示す。

【図2-1】11種のマー モセッ トおよび6種のフクロウサルV 遺伝子セグメントのヌクレオチド、およびアミノ酸配列を示す。

【図2-2】図2 1のの続きを表す。

【図2-3】図2 2のの続きを表す。

【図2-4】図2 3のの続きを表す。

【図2-5】図2 4のの続きを表す。

【図3】アクセプターdAbのアミノ酸(配列番号6)、およびヌクレオチド配列(両方の鎖;配列番号5および53)を示す。CDR2を含む領域を切除するKpnIおよびSanDIの制限酵素切断部位を図中に示す。切除されるCDR2残基を下線で示す。

【図4】図2で示されるヌクレオチド(A; それぞれ、配列番号5、36、54から56、37、57から59、14、60から62、15、63から65)、およびアミノ酸(B; それぞれ、配列番号6、42、66から68、43、69から71、25、72から74、26、75から77)配列のクローニングおよび最終配列確認の間に使用されるオリゴヌクレオチドを示す配列アラインメントを示す。

【図5】TNFが組換えTNFレセプターに結合することを阻害するCDR2移植dAbの能力を示す。試験されるdAbは以下のとおりである: フクロウサル1(CDR=AATKLQS; 配列番号1), フクロウサル2(CDR=EASSLQS; 配列番号2)、マー モセッ ト1(CDR=EASKLQS; 配列番号3)、マー モセッ ト2(CDR=SASNLET; 配列番号4)、およびアクセプター(CDR=SASELQS; 配列番号49)。

【図6】アクセプターdAb(化合物1 4 5)に対して相対的な、マウスL929線維芽細胞に対するTNFの細胞毒性活性を中和する化合物1 0 0および1 2 3の改善される能力を示す。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2009519720000001.app