

【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30年8月23日 (2018.8.23)

【公表番号】特表2017-528444(P2017-528444A)

【公表日】平成29年9月28日 (2017.9.28)

【年通号数】公開・登録公報2017-037

【出願番号】特願2017-507401(P2017-507401)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/55 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/20 (2006.01)

A 6 1 K 47/60 (2017.01)

【 F I 】

C 0 7 K 14/55 Z N A

C 1 2 N 15/00 A

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 43/00 1 0 7

A 6 1 K 38/20

A 6 1 K 47/60

【手続補正書】

【提出日】平成30年7月12日 (2018.7.12)

【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】

配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有し、かつ配列番号 1 のアミノ酸配列に対して置換 D 1 0 9 C を含有する I L - 2 変異体タンパク質。

【請求項 2】

配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98% の配列同一性を有する、請求項 1 に記載の I L - 2 変異体タンパク質。

【請求項 3】

1 0 9 位におけるシステインに連結されたポリエチレングリコール部分を有し、該ポリエチレングリコール部分の分子量が、5 ~ 4 0 k D a の間である、請求項 1 に記載の I L - 2 変異体タンパク質。

【請求項 4】

I L - 2 変異体タンパク質が、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して N 8 8 R、N 8 8 I、N 8 8 G、D 2 0 H、Q 1 2 6 L、および Q 1 2 6 F からなる群から選択される置換のうちの少なくとも 1 つを含有する、請求項 1 に記載の I L - 2 変異体タンパク質。

【請求項 5】

配列番号 1 のアミノ酸配列に対して置換 C 1 2 5 S をさらに含む、請求項 4 に記載の I L - 2 変異体タンパク質。

【請求項 6】

配列番号 1 のアミノ酸配列に対して置換 N 8 8 R および置換 C 1 2 5 S を含む、請求項

3 に記載の I L - 2 変異体タンパク質。

【請求項 7】

配列番号 1 の アミノ酸配列 に対して 少なくとも 98 % の配列同一性を有する、請求項 6 に記載の I L - 2 変異体タンパク質。

【請求項 8】

請求項 3 に記載の I L - 2 変異体タンパク質 と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【請求項 9】

配列番号 1 の アミノ酸配列 に対して 少なくとも 95 % の配列同一性、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して D 1 0 9 C の置換を有し、かつ T 細胞を活性化させる能力を有するヒト I L - 2 変異体タンパク質の循環半減期を延長する方法であって、ポリエチレングリコール部分を、109 位におけるシステイン残基に連結するステップを含む、方法。

【請求項 10】

前記 I L - 2 変異体タンパク質 が、配列番号 1 の アミノ酸配列 に対して 少なくとも 98 % の配列同一性を有する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記 ポリエチレングリコール部分 が、5 k D a ~ 40 k D a の間の分子量 を有する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記 I L - 2 変異体タンパク質 が、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して N 8 8 R、N 8 8 I、N 8 8 G、D 2 0 H、Q 1 2 6 L、および Q 1 2 6 F からなる群から選択される置換のうちの少なくとも 1 つを含有する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 13】

前記 I L - 2 変異体タンパク質 が、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して置換 C 1 2 5 S をさらに含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記 I L - 2 変異体タンパク質 が、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して置換 N 8 8 R および置換 C 1 2 5 S を含有する、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記 I L - 2 変異体タンパク質 が、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98 % の配列同一性を有する、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 16】

前記 I L - 2 変異体タンパク質 が、置換 N 8 8 R、D 1 0 9 C および C 1 2 5 S を含有する配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、請求項 3 に記載の I L - 2 変異体タンパク質。

【請求項 17】

前記 I L - 2 変異体タンパク質 が、置換 N 8 8 R、D 1 0 9 C および C 1 2 5 S を含有する配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 18】

配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有し、かつ配列番号 1 のアミノ酸配列に対して置換 D 1 0 9 C を含有する I L - 2 変異体タンパク質を含む、対象において自己免疫疾患を処置するための医薬組成物。

【請求項 19】

前記 自己免疫疾患 が、1 型糖尿病、全身性エリテマトーデス、移植片対宿主病および自己免疫性血管炎からなる群から選択される、請求項 18 に記載の 医薬組成物。

【請求項 20】

前記 I L - 2 変異体タンパク質 が、置換 N 8 8 R、D 1 0 9 C および C 1 2 5 S を含有する配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、請求項 18 または 19 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】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

化学的に活性化させたPEGであって、タンパク質へのコンジュゲーションのための、多数の異なる、化学的に反応性の基を伴い、第一級アミンを含有するアミノ酸残基またはチオール基へのコンジュゲーションを可能とするPEGが開発されている。これらのうちで、システイン残基上に固有に存在するチオール基は、PEGの、タンパク質への、最も選択的なコンジュゲーションを可能とし、マレイミド反応性基またはヨードアセトアミド反応性基を伴うPEGは、遊離システインのチオールと極めて選択的に反応する。細胞外タンパク質内の大半のシステイン残基は、タンパク質のコンフォメーションを安定化させるジスルフィド結合に関与するが、少数の遊離（不対合）システイン残基は通例、タンパク質の内部に埋もれている（Petersen, M. T. ら、1999年、Protein Eng., 1999年、12巻：535～48頁）。タンパク質内の遊離システイン残基へのPEGコンジュゲーションは、天然の露出された遊離システイン残基、または新規の遊離システイン残基の導入を必要とする。新規の遊離システインの、タンパク質への工学的導入は、導入された新規のシステインが、他のシステインと共に、不適切な鎖内ジスルフィド結合を形成し、これによりタンパク質のミスフォールディングを引き起こしうる、または他の分子と共に鎖間ジスルフィド結合を形成し、これによりタンパク質の凝集を引き起こすしうる危険性を伴う。システイン残基を突然変異させたIL-2変異体は、ジスルフィド結合の誤対合に起因して、活性の実質的な低減を呈しうる（Wang, A. ら、1984年、Science., 224巻：1431～3頁）。本明細書では、本発明は、新規の遊離システイン残基の、IL-2変異体タンパク質への工学的導入であって、適正なタンパク質フォールディングに適合性であり、チオール反応性PEGの部位特異的コンジュゲーションを可能とし、Treg上のIL2R に結合し、これを活性化させる能力を保持するIL-2-PEGコンジュゲートを結果としてもたらす工学的導入に焦点を絞る。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

（項目1）

配列番号1に対して少なくとも95%の配列同一性を有し、置換D109Cを含有し、かつT細胞を活性化させる能力を有するIL-2変異体タンパク質。

（項目2）

配列番号1に対して98%超の配列同一性を有する、項目1に記載のタンパク質。

（項目3）

109位におけるシステインに連結されたポリエチレングリコール部分を有し、該ポリエチレングリコール部分の分子量が、5～40kDaの間である、項目1に記載のタンパク質。

（項目4）

IL-2タンパク質が、N88R、N88I、N88G、D20H、Q126L、およびQ126Fからなる群から選択される置換のうちの少なくとも1つを含有する、項目1に記載のIL-2変異体タンパク質。

（項目5）

置換C125Sをさらに含む、項目4に記載のIL-2変異体タンパク質。

（項目6）

前記IL-2タンパク質の配列が、置換N88Rおよび置換C125Sを含有する、項目3に記載のIL-2変異体タンパク質。

（項目7）

配列番号1に対して98%の配列同一性を有する、項目6に記載のIL-2変異体タンパク質。

(項目 8)

項目 4 に記載の P E G 化タンパク質と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

(項目 9)

配列番号 1 に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性、D 1 0 9 C の置換を有し、T 細胞を活性化させる能力を有するヒト I L - 2 変異体タンパク質の循環半減期を延長する方法であって、ポリエチレングリコール部分を、1 0 9 位におけるシステイン残基に連結するステップを含み、該ポリエチレングリコール部分が、該タンパク質の循環半減期を、該ポリエチレングリコール部分を伴わない同じタンパク質と比較して延長するのに十分な長さである方法。

(項目 1 0)

前記タンパク質が、配列番号 1 に対して 9 8 % 超の配列同一性を有する、項目 9 に記載の方法。

(項目 1 1)

前記タンパク質が、1 0 9 位におけるシステインに連結された、分子量が 5 k D a ~ 4 0 k D a の間であるポリエチレングリコール部分を有する、項目 9 に記載の方法。

(項目 1 2)

前記タンパク質が、N 8 8 R、N 8 8 I、N 8 8 G、D 2 0 H、Q 1 2 6 L、および Q 1 2 6 F からなる群から選択される置換のうちの少なくとも 1 つを含有する、項目 9 に記載の方法。

(項目 1 3)

前記タンパク質が、置換 C 1 2 5 S をさらに含む、項目 1 2 に記載の方法。

(項目 1 4)

前記タンパク質が、置換 N 8 8 R および置換 C 1 2 5 S を含有する、項目 1 2 に記載の方法。

(項目 1 5)

前記タンパク質が、配列番号 1 に対して 9 8 % の配列同一性を有する、項目 1 2 に記載の方法。

(項目 1 6)

医薬組成物を、ヒト調節性 T 細胞濃度を刺激するのに十分な治療有効用量で投与する、項目 9 に記載の方法。