

【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】 令和 5 年 11 月 22 日 (2023.11.22)

【国際公開番号】 WO2023/120561

【出願番号】 特願 2023-501876 (P2023-501876)

【国際特許分類】

C 0 7 K 16/28(2006.01)

C 0 7 K 1/16(2006.01)

C 1 2 P 21/02(2006.01)

C 1 2 P 21/08(2006.01)

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 P 37/06(2006.01)

G 0 1 N 30/02(2006.01)

G 0 1 N 30/88(2006.01)

G 0 1 N 33/68(2006.01)

【F I】

C 0 7 K 16/28 Z N A

C 0 7 K 1/16

C 1 2 P 21/02 A

C 1 2 P 21/08

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 P

A 6 1 P 37/06

G 0 1 N 30/02 B

G 0 1 N 30/88 J

G 0 1 N 33/68

【手続補正書】

【提出日】 令和 5 年 2 月 2 日 (2023.2.2)

【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】

アミノ酸配列 DGYDDGPYTLET (配列番号 3) を含む可変領域を有する抗体のバリエーションであって、

(a) 前記配列の N 末端側から 1 番目の位置におけるアミノ酸残基 D、

(b) 前記配列の N 末端側から 4 番目の位置におけるアミノ酸残基 D、または

(c) 前記配列の N 末端側から 5 番目の位置におけるアミノ酸残基 D

がスクシンイミド残基またはイソアスパラギン酸残基である、抗体バリエーション。

【請求項 2】

前記配列が CDR 配列である、請求項 1 に記載の抗体バリエーション。

【請求項 3】

前記配列が重鎖に含まれる配列である、請求項 1 に記載の抗体バリエーション。

【請求項 4】

アミノ酸配列 DGYDDGPYTLET (配列番号 3) を含む可変領域を有する前記抗体が、

(1) 配列番号 1 に記載の CDR1、配列番号 2 に記載の CDR2、および配列番号 3 に記載

10

20

30

40

50

のCDR3を含む重鎖可変領域、ならびに、配列番号4に記載のCDR1、配列番号5に記載のCDR2、および配列番号6に記載のCDR3を含む軽鎖可変領域を含む抗体、

(2) 配列番号7に記載の重鎖可変領域、および、配列番号8に記載の軽鎖可変領域を含む抗体、または

(3) 配列番号9に記載の重鎖、および、配列番号10に記載の軽鎖を含む抗体のいずれかである、請求項1に記載の抗体バリエーション。

【請求項5】

アミノ酸配列DGYDDGPYTLET（配列番号3）を含む可変領域を有する前記抗体がネモリズマブである、請求項1に記載の抗体バリエーション。

【請求項6】

陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて分離した場合に、アミノ酸配列DGYDDGPYTLET（配列番号3）を含む可変領域を有する前記抗体よりも保持時間（retention time）が短い、請求項1に記載の抗体バリエーション。

【請求項7】

アミノ酸配列DGYDDGPYTLET（配列番号3）を含む可変領域を有する前記抗体よりも生物活性が低い、請求項1に記載の抗体バリエーション。

【請求項8】

請求項1に記載の抗体バリエーションを含む、医薬組成物。

【請求項9】

請求項1に記載の抗体バリエーションを含む医薬組成物であって、該医薬組成物中のイソアスパラギン酸残基含有抗体バリエーションの、該抗体バリエーションおよび修飾を受けていない抗体の合計に対する割合が36%以下であり、かつ/あるいは酵素消化後の該医薬組成物中の該抗体バリエーション由来のイソアスパラギン酸残基含有ペプチドの、該イソアスパラギン酸残基含有ペプチドおよび対応する修飾を受けていないペプチドの合計に対する割合が20%以下である、医薬組成物。

【請求項10】

請求項1に記載の抗体バリエーションを含む医薬組成物であって、陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて該医薬組成物を分離した場合の全ピーク面積に対する、イソアスパラギン酸残基含有抗体バリエーション含有ピークの面積の割合が40.3 area%以下である、医薬組成物。

【請求項11】

請求項1に記載の抗体バリエーションを含む医薬組成物であって、該医薬組成物中のスクシンイミド残基含有抗体バリエーションの、修飾を受けていない抗体に対する割合が36%以下であり、かつ/もしくは酵素消化後の該医薬組成物中の該抗体バリエーション由来のスクシンイミド残基含有ペプチドの、該スクシンイミド残基含有ペプチドおよび対応する修飾を受けていないペプチドの合計に対する割合が20%以下である、医薬組成物。

【請求項12】

請求項1に記載の抗体バリエーションを含む医薬組成物であって、陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて該医薬組成物を分離した場合の全ピーク面積に対する、イソアスパラギン酸残基含有抗体バリエーション含有ピークの面積の割合が29.1 area%以下である、医薬組成物。

【請求項13】

ネモリズマブを含む、請求項8～12のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項14】

アミノ酸配列DGYDDGPYTLET（配列番号3）を含む可変領域を有する抗体あるいは酵素処理された該抗体を含む試料を、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、順相クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）、疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）、電荷に基づく分離、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）、またはそれらの組み合わせによって分離する工程を含む、請求項1に記載の抗体

10

20

30

40

50

バリエーションの検出方法。

【請求項 15】

前記イオン交換クロマトグラフィーがアニオン交換クロマトグラフィーであることを特徴とする、請求項 14 に記載の検出方法。

【請求項 16】

前記アニオン交換クロマトグラフィーが、内径 4.6-7.5 mm、長さ 35-150 mm、粒径 2.5-10 μm のカラムを、カラム温度 25-50℃ で用いて、pH 6.0-10.0 の移動相により溶出することを特徴とする、請求項 15 に記載の検出方法。

【請求項 17】

酵素処理された前記抗体を含む試料を分離する前記工程に続いて、質量分析及び/または紫外吸収測定によってペプチドを定量する工程を含む、請求項 14 に記載の検出方法。

10

【請求項 18】

請求項 14～17 のいずれか一項に記載の検出方法を実施する工程を含む、ネモリズマブを含有する組成物の製造方法。

【請求項 19】

ネモリズマブを含有する組成物の製造方法であって、ネモリズマブを含む溶液を、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC)、疎水性相互作用クロマトグラフィー (HIC)、電荷に基づく分離、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)、ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC)、またはそれらの組み合わせによって精製する工程を含む、製造方法。

20

【請求項 20】

前記精製する工程が、ネモリズマブ産生細胞から得られたネモリズマブ含有組成物をアフィニティークロマトグラフィーによって精製することを含む、請求項 19 に記載の製造方法。

【請求項 21】

前記アフィニティークロマトグラフィーによる精製後のネモリズマブ含有溶液の保持時間 (hold time) が 72 時間以内であることを特徴とし、該保持時間がより長い場合と比べて組成物中の請求項 1 に記載の抗体バリエーションの含有率が低い、請求項 20 に記載の製造方法。

【請求項 22】

アミノ酸配列 DGYDDGPYTLET (配列番号 3) を含む可変領域を有する抗体を産生する細胞から得られた抗体含有組成物をアフィニティークロマトグラフィーにより精製する工程を含む、請求項 1 に記載の抗体バリエーションの含有率を抑制する方法。

30

【請求項 23】

前記アフィニティークロマトグラフィーによる精製後のネモリズマブ含有溶液の保持時間が 72 時間以内であることを特徴とし、該保持時間がより長い場合と比べて組成物中の請求項 1 に記載の抗体バリエーションの含有率が低い、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

ネモリズマブの重鎖における EU ナンバリング 224 位のシステイン同士で結合した、2 本の重鎖で形成された構造を有していることを特徴とする、ネモリズマブの抗体バリエーション。

40

【請求項 25】

ネモリズマブの軽鎖における EU ナンバリング 214 位のシステイン同士で結合した、2 本の軽鎖で形成された構造を有していることを特徴とする、ネモリズマブの抗体バリエーション。

【請求項 26】

ネモリズマブの軽鎖における EU ナンバリング 214 位のシステインと、ネモリズマブの重鎖における EU ナンバリング 224 位のシステインが結合し、さらに重鎖の EU ナンバリング 227 位及び 230 位のシステインが 1 本の重鎖内で結合した、1 本の軽鎖と 1 本の重鎖で形成された構造を有していることを特徴とする、ネモリズマブの抗体バリエーション。

50

【請求項 27】

ネモリズマブの軽鎖におけるEUナンバリング214位のシステインと遊離のシステインが結合した、1本の軽鎖で形成された構造を有していることを特徴とする、ネモリズマブの抗体バリエーション。

【請求項 28】

ネモリズマブの2本の重鎖と1本の軽鎖から構成されており、2本の重鎖がEUナンバリング227位及び230位の2箇所のシステイン同士でそれぞれ結合し、さらに1本目の重鎖におけるEUナンバリング224位のシステインが軽鎖におけるEUナンバリング214位のシステインと結合し、さらに2本目の重鎖におけるEUナンバリング224位のシステインが遊離のシステインと結合した構造を有していることを特徴とする、ネモリズマブの抗体バリエーション。

10

【請求項 29】

請求項 24～28のいずれか一項に記載の抗体バリエーションを含む医薬組成物であって、該医薬組成物中の全抗体分子における該抗体バリエーションの割合が11.0 CPA%以下である、医薬組成物。

【請求項 30】

ネモリズマブ重鎖Kabat番号55位におけるアスパラギンが脱アミド化していることを特徴とする、ネモリズマブの抗体バリエーション。

【請求項 31】

請求項 30に記載の抗体バリエーションを含む医薬組成物であって、該医薬組成物を酵素消化した後の該抗体バリエーション由来の脱アミド化含有ペプチドの、該脱アミド化含有ペプチドおよび対応する修飾を受けていないペプチドの合計に対する割合が2.0%以下である、医薬組成物。

20

30

40

50