

【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】令和6年4月2日(2024.4.2)

【国際公開番号】WO2021/185362  
 【公表番号】特表2023-518443(P2023-518443A)  
 【公表日】令和5年5月1日(2023.5.1)  
 【年通号数】公開公報(特許)2023-081  
 【出願番号】特願2022-556175(P2022-556175)

【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 0 7 K 14/55(2006.01)

C 0 7 K 19/00(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 1/19(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 P 21/02(2006.01)

C 1 2 P 21/08(2006.01)

A 6 1 K 38/20(2006.01)

20

A 6 1 P 37/04(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 K 47/68(2017.01)

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 K 9/08(2006.01)

A 6 1 K 47/02(2006.01)

A 6 1 K 47/22(2006.01)

C 0 7 K 16/18(2006.01)

C 1 2 N 15/13(2006.01)

【F I】

30

C 1 2 N 15/12

C 0 7 K 14/55 Z N A

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02 K

C 1 2 P 21/08

A 6 1 K 38/20

40

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 47/68

A 6 1 K 39/395 L

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 9/08

A 6 1 K 47/02

A 6 1 K 47/22

C 0 7 K 16/18

C 1 2 N 15/13

50

【手続補正書】

【提出日】令和6年3月19日(2024.3.19)

【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】

10

IL-2変異タンパク質であって、  
前記IL-2変異タンパク質は、野生型IL-2と比較して、短縮されたB' C'ループ領域を含み、

前記短縮されたB' C'ループ領域は、アミノ酸残基aa72とaa84との間に位置する10アミノ酸未満の長さを有する配列を有し、かつ、

(i) (aa)74から(aa)83位において、GDASIHの配列；

(ii) (aa)74から(aa)83位において、(Q/G)S(K/A/D)N(F/I)Hの配列；

(iii) aa74位からaa83位における配列の、ヒトIL-15由来のB' C'ループ配列での置換；または

20

(iv) aa74からaa83位における配列のC末端切断であって、ここで、1、2、3または4個のアミノ酸がC末端から切断される、前記C末端切断；を含み、

ここで、前記アミノ酸の位置は配列番号1に従って番号付けされる、

前記IL-2変異タンパク質。

【請求項2】

野生型IL-2と比較して、IL-2のCD25との結合界面において変異をさらに含む、請求項1に記載のIL-2変異タンパク質。

【請求項3】

前記IL-2のCD25との結合界面における変異が、

(a) K35E+T37E+R38E+F42A；

30

(b) K35E+T37D+R38W+F42Q+Y45K+E61K+E68R；

(c) K35D+R38E+T41E+K43E；

(d) K35D+T37E+R38D+K43Y+Y45K+L72F；

(e) K35E+R38E+T41E+K43Y+Y45K+L72F；

(f) K35D+T37E+R38D+T41E+K43E+L72F；

(g) K35D+T37E+R38D+K43E+L72F；

(h) K35E+T37D+R38D+K43E+L72F；および

(i) K35E+R38D+T41E+K43E+E61K+L72F；

からなる群から選択される、請求項2に記載の変異タンパク質。

【請求項4】

40

K35E+T37E+R38E+F42Aをさらに含む、請求項1に記載の変異タンパク質。

【請求項5】

前記変異タンパク質が、GDASIH、QSKNFH、QSANFH、QSDNFH、GSKNFH、QSANFH、およびQSANIHからなる群より選択される、aa74からaa83の位置の配列を含む短縮されたB' C'ループ領域を含む、

請求項1~4のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項6】

前記変異タンパク質が、AGDASIH、又はA(Q/G)S(K/A/D)N(F/I)Hからなる群より選択される、aa72からaa84の位置の配列を含む短縮されたB

50

‘C’ループ領域を含む、

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 7】

野生型 IL - 2 と比較して、

( i ) K 3 5 E + T 3 7 E + R 3 8 E + F 4 2 A、および

( i i ) AGDASIH、AQSKNFH、AQSANFH、AQSDNFH、および S G D A S I H からなる群から選択される、a a 7 2 から a a 8 4 の位置の配列を有する短縮された B ‘C’ループ領域、

を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 8】

前記変異タンパク質が、変異 T 3 A をさらに含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 9】

野生型 IL - 2 と比較して、保存的アミノ酸残基変異など、0 ~ 5 個以下のアミノ酸変異をさらに含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 10】

前記野生型 IL - 2 が、ヒト由来の IL 2、又は配列番号 1、2 もしくは 3、もしくはそれらに対して 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % の相同性を有する配列を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 11】

( i ) 配列番号 2 3、2 2、2 4、2 5、および 2 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、または 9 8 % の同一性を有するアミノ酸配列；又は

( i i ) 配列番号 2 3、2 2、2 4、2 5、もしくは 2 6 のアミノ酸配列、

を含む、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 12】

野生型 IL - 2 と比較して、F c 融合タンパク質として哺乳動物細胞で発現される場合、ワンステップアフィニティークロマトグラフィー後、SEC - HPLC 検出により測定されるように、改善された発現量および/またはより高い純度を有する、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 13】

野生型 IL - 2 と比較して、以下の特性の 1 項または複数項を有する：

- 高親和性 IL - 2 R 受容体 ( IL - 2 R ) への結合親和性を低減している；
- 中程度の親和性 IL - 2 R 受容体 ( IL - 2 R ) への結合親和性を増加させている；

- CD 2 5 + 細胞の活性化を低減している；

- CD 2 5 + CD 8 + T 細胞における IL - 2 媒介性シグナル伝達の刺激作用を低減している；

- CD 2 5 + T r e g 細胞の活性化に対する偏向を除去または低減している；

- IL - 2 誘導性 T r e g 細胞による免疫応答のダウンレギュレート作用を低減している；

- CD 2 5 - 細胞の活性化作用を維持または増強している；および

- CD 2 5 - エフェクター T 細胞および NK 細胞の IL 2 により媒介される増殖並びに活性化の刺激を増加させている；

請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 14】

以下の 1 項または複数項の特性を有する：

- インビボ抗腫瘍効果；

- 有意なインビボ毒性のない；および

- 保存安定性を有する；

10

20

30

40

50

請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の変異タンパク質。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の IL2 変異タンパク質を含む、IL-2 変異タンパク質の融合タンパク質。

【請求項 16】

前記 IL-2 変異タンパク質が、Fc 抗体断片と融合される、請求項 15 に記載の融合タンパク質。

【請求項 17】

前記 IL-2 変異タンパク質が、リンカーを介して Fc と融合される、請求項 16 に記載の融合タンパク質。

【請求項 18】

前記リンカーが、GSGS 又は 2x(G4S) である、請求項 17 に記載の融合タンパク質。

【請求項 19】

前記 Fc が、ヒト IgG1 Fc である、請求項 16 ~ 18 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 20】

前記 Fc が、変異 L234A + L235A を含む、請求項 16 ~ 19 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 21】

前記融合タンパク質が、  
 (a) . 配列番号 10、11、12、13 もしくは 14 の配列；  
 (b) . 配列番号 15、16、17、18 もしくは 19 の配列；又は  
 (c) . (a) 又は (b) のアミノ酸配列と少なくとも 95%、少なくとも 96% もしくは 100% の同一性を有する配列；  
 を含む、請求項 16 ~ 19 のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の IL-2 変異タンパク質と抗原結合分子とを含む、免疫複合体。

【請求項 23】

前記抗原結合分子が、免疫グロブリン分子である、または抗体もしくは抗体断片である、請求項 22 に記載の免疫複合体。

【請求項 24】

請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の IL-2 変異タンパク質、請求項 15 ~ 21 のいずれか一項に記載の融合タンパク質、または請求項 22 もしくは 23 に記載の免疫複合体をコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 25】

請求項 24 に記載のポリヌクレオチドを含む、発現ベクター。

【請求項 26】

請求項 24 に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 25 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 27】

前記 IL-2 変異タンパク質またはその融合タンパク質もしくは免疫複合体の発現に適した条件下で、請求項 26 に記載の宿主細胞を培養するステップを含む、IL-2 変異タンパク質またはその融合タンパク質もしくは免疫複合体を製造する方法。

【請求項 28】

請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の IL-2 変異タンパク質または請求項 15 ~ 21 のいずれか一項に記載の融合タンパク質、または請求項 22 もしくは 23 に記載の免疫複合体、および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

【請求項 29】

10

20

30

40

50

請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の I L - 2 変異タンパク質または請求項 15 ~ 21 のいずれか一項に記載の融合タンパク質、または請求項 22 もしくは 23 に記載の免疫複合体を含む、がんの治療に使用するための医薬組成物。

【請求項 30】

請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の I L - 2 変異タンパク質、または請求項 12 ~ 19 のいずれか一項に記載の融合タンパク質、または請求項 20 もしくは 21 に記載の免疫複合体を含む、被験者の免疫系の刺激に使用するための医薬組成物。

【請求項 31】

I L - 2 タンパク質 B ' C ' ループ領域の改造方法であって、

( a ) B ' C ' ループ領域における a a 7 4 ~ a a 8 3 を G D A S I H を含む配列で置換するステップ；または、

( b ) B ' C ' ループ領域における a a 7 3 ~ a a 8 3 を A G D A S I H を含む配列で置換するステップ；または、

( c ) B ' C ' ループ領域の a a 7 4 ~ a a 8 3 を C 末端からの 1、2、3 または 4 個のアミノ酸切断するステップ；または、

( d ) B ' C ' ループ領域の a a 7 4 ~ a a 8 3 を切断して配列 ( Q / G ) S ( K / A / D ) N ( F / I ) H を形成する、又は Q S K N F H、Q S A N F H、Q S D N F H、G S K N F H、Q S A N F H、および Q S A N I H からなる群から選択される配列を形成するステップ；

を含む、前記方法。

【請求項 32】

- I L - 2 の I L - 2 R との結合界面に 1 つまたは複数の変異を導入するステップ、

- 哺乳動物細胞において、前記 I L - 2 変異タンパク質を、F c 融合体の形態で発現させるステップ、

- 以下の 1 項または複数項の改善された特性；

( i ) ワンステップアフィニティークロマトグラフィー後の S E C - H P L C 検出によって測定される、改善された発現量および / またはタンパク質の純度；

( i i ) 低減された I L 2 R 結合；

( i i i ) 増強された I L 2 R 結合；

を有する変異タンパク質を同定するステップ、

をさらに含む、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 33】

請求項 31 又は 32 に記載の方法によって改造して得られる、I L - 2 タンパク質。

10

20

30

40

50