明　細　書

発明の名称 ： 抗体－薬物コンジュゲートの効果的な製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、凝集体の生成を減らしつつ副生成物を効果的に除去するための精製工程を含む抗体－薬物コンジュゲートの製造方法、及び該抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の製造方法に関する。

背景技術

[0002] がん細胞表面に発現する抗原に結合し、かつ細胞に内在化できる抗体に、細胞毒性を有する薬物を結合させた抗体－薬物コンジュゲート（Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ｄｒｕｇ　Ｃｏｎｊｕｇａｔｅ；　ＡＤＣ）は、がん細胞に選択的に薬物を送達できることによって、がん細胞内に薬物を蓄積させ、がん細胞を死滅させることが期待できる（非特許文献１～５）。

[0003] 特許文献１～９の実施例には、抗体－薬物コンジュゲートの製造方法が記載されている。これらの製造方法では、疎水性クロマトグラフィーやゲル濾過クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィーによる精製工程が含まれている。

[0004] 抗体－薬物コンジュゲートの一つの例として、抗体とトポイソメラーゼＩ阻害剤であるエキサテカンの誘導体を構成要素とする抗体－薬物コンジュゲートが知られている（特許文献１０～１４、非特許文献６～９）。これらの抗体－薬物コンジュゲートは、優れた抗腫瘍効果と安全性を有することから、現在、臨床試験が進行中である。

[0005] 特許文献１０～１４には、上記の抗体－薬物コンジュゲートを製造するための方法として、抗体と薬物リンカー中間体とをコンジュゲーションする方法、及び、得られた抗体－薬物コンジュゲートを精製する方法が記載されている。

[0006] 特許文献１１～１３の実施例には、上記の抗体－薬物コンジュゲートを、ソルビトール含有酢酸緩衝液を用いた限外濾過により精製した旨が記載され

ている。また、特許文献１４には、上記の抗体－薬物コンジュゲートを、酢酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液、又はリン酸緩衝液を用いた限外濾過により精製することができる旨が記載されていた。しかしながら、工業的により優れた抗体－薬物コンジュゲートの製造方法の開発が望まれている。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：国際公開第２００２／０９８８８３号

特許文献2：国際公開第２００５／０３７９９２号

特許文献3：国際公開第２００５／０８４３９０号

特許文献4：国際公開第２００６／０８６７３３号

特許文献5：国際公開第２００７／０２４５３６号

特許文献6：国際公開第２０１０／１４１５６６号

特許文献7：国際公開第２０１１／０３９７２４号

特許文献8：国際公開第２０１２／１３５５１７号

特許文献9：国際公開第２０１５／１０４３５９号

特許文献10：国際公開第２０１４／０５７６８７号

特許文献11：国際公開第２０１５／０９８０９９号

特許文献12：国際公開第２０１５／１１５０９１号

特許文献13：国際公開第２０１５／１５５９９８号

特許文献14：国際公開第２０１７／００２７７６号

非特許文献

[0008] 非特許文献1：Ducry, L., et al., Bioconjugate Chem. (2010) 21, 5-13.

非特許文献2：Alley, S. C., et al., Current Opinion in Chemical Biology (2010) 14, 529-537.

非特許文献3：Damle N. K. Expert Opin. Biol. Ther. (2004) 4, 1445-1452.

非特許文献4：Senter P. D., et al., Nature Biotechnology (2012) 30, 631-637.

非特許文献5：Howard A. et al., J Clin Oncol 29: 398-405.

非特許文献6：Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research (2016) 22(20), 5097-5108.

非特許文献7：Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046.

非特許文献8：Doi T, et al., Lancet Oncol 2017; 18: 1512-22.

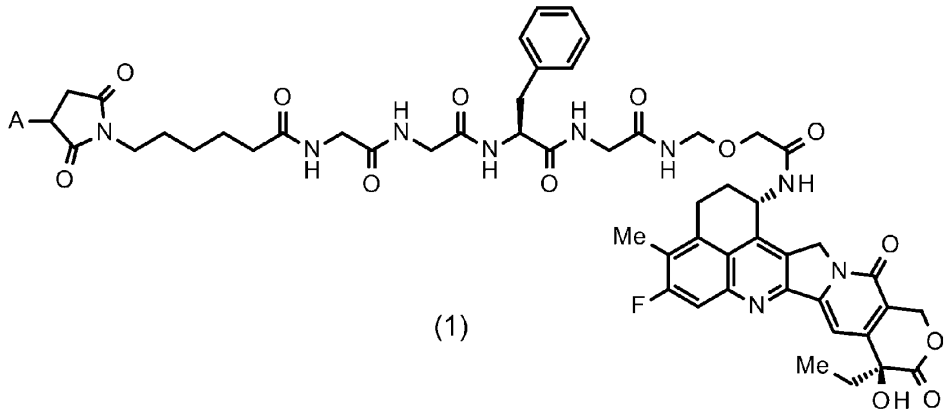
非特許文献9：Takegawa N, et al., Int. J. Cancer: 141, 1682-1689 (2017).

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明の製造方法にかかる抗体－薬物コンジュゲートは、式（１）

[0010] [化1]



(1)

[0011] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体－薬物コンジュゲートである。

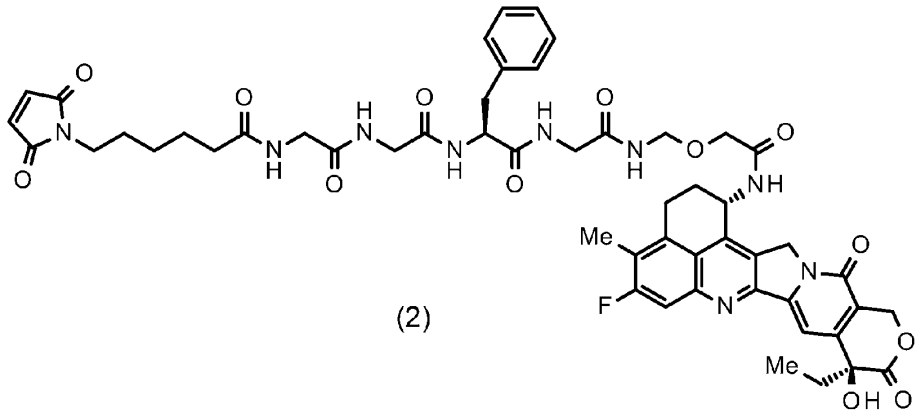
[0012] かかる抗体－薬物コンジュゲートの製造方法として、

（ｉ）抗体を、還元剤で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0013]

[化2]



(2)

[0014] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、次いで、

（ｉｉｉ）チオール基を有する試薬を添加し、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させる工程、を含む製造方法を挙げることができる。

[0015] しかし、該抗体－薬物コンジュゲート、特に、１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である抗体－薬物コンジュゲートを製造するためには、大量の式（２）で表される化合物が必要とされ、これに伴い、式（２）で表される化合物由来の副生成物が大量に生じ得る。また、抗体－薬物コンジュゲートの製造にあたっては、凝集体の生成を抑制することが求められており、抗体部分及び薬物リンカー部分それぞれに特有な物性も考慮に入れた、反応・精製条件の検討が必要とされる。

[0016] 本発明の一つの課題は、式（２）で表される化合物由来の副生成物を効果的に除去するための精製工程を含み、且つ凝集体の生成を抑制した、工業的に優れた抗体－薬物コンジュゲートの製造方法を提供することである。さらに該抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の工業的に優れた製造方法を構築することを他の一つの課題とする。

課題を解決するための手段

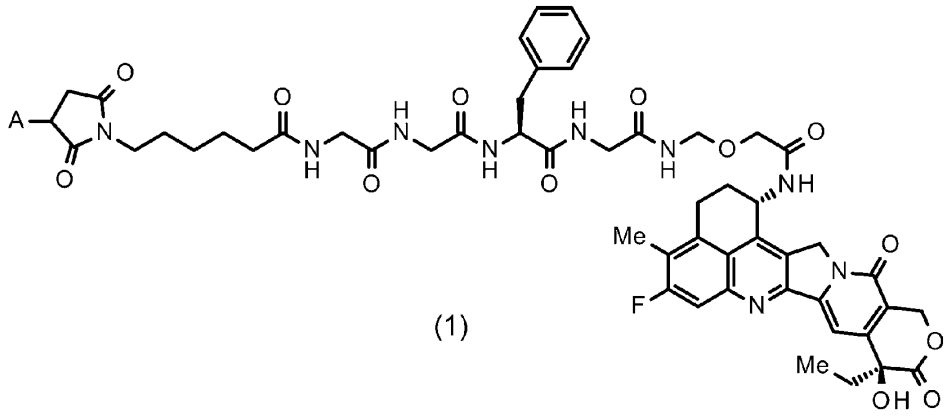
[0017] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討を行ったところ、抗体－薬物コンジュゲートの精製工程において、強酸と強塩基からなる塩を含有する緩衝液を用いた限外濾過を行うことにより、式（２）で表される化合物由来の副生成物を効果的に除去できることを見出した。更に、抗体－薬物コンジュゲートの製造工程及び精製工程において、凝集体の生成を抑制することができる反応・精製条件を見出した。これにより該抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の工業的に優れた製造方法が提供された。

[0018] すなわち、本発明は、以下の［１］～［４１０］を提供する。

［１］

式（１）

[0019] [化3]



(1)

[0020] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

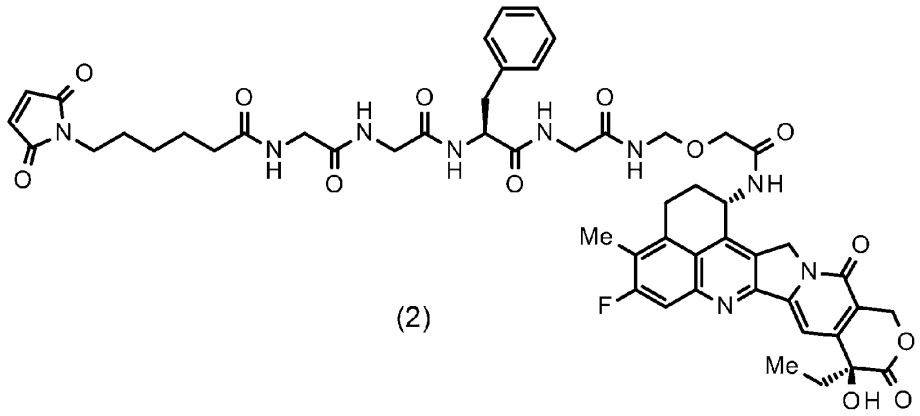
で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、還元剤で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0021]

[化4]



(2)

[0022] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、

（ｉｉｉ）チオール基を有する試薬を添加し、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させる工程、次いで、

（ｉｖ）強酸と強塩基からなる塩を含有する緩衝液を用いた限外濾過により、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉ）の工程で使用される還元剤が付加した化合物、及び、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が付加した化合物を除去する工程、

を含むことを特徴とする、製造方法。

［２］

（ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン又はその塩である、［１］に記載の製造方法。

［３］

（ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩である、［１］に記載の製造方法。

［４］

（ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、［１］から［３］のいずれか１項に

記載の製造方法。

［５］

緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、［４］に記載の製造方法。

［６］

緩衝液が、酢酸緩衝液である、［４］又は［５］に記載の製造方法。

［７］

（ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、［１］から［６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［８］

キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、［７］に記載の製造方法。

［９］

（ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、［４］から［８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１０］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［９］に記載の製造方法。

［１１］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［９］に記載の製造方法。

［１２］

（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が、Ｎ－アセチルシステインである、［１］から［１１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１３］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［１］から［１２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１４］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［１］から［１２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１５］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［１］から［１２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１６］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［１］から［１２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１７］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［１］から［１２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１８］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、［１］から［１７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１９］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、［１］から［１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0023] ［２０］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、［１］から［１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２１］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．４～０．６重量％である、［１］から［１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．５重量％である、［１］から［１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２３］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩が、塩化ナトリウムである、［１］から［２２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２４］

（ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）緩衝液を用いた限外濾過により、強酸と強塩基からなる塩を除去する工程、

を含む、［１］から［２３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２５］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、［２４］に記載の製造方法。

［２６］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［２４］に記載の製造方法。

［２７］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［２４］に記載の製造方法。

［２８］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［２４］に記載の製造方法。

［２９］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［２４］に記載の製造方法。

［３０］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［２４］に記載の製造方法。

［３１］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、［２４］

から［３０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、［１］から［３１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３３］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、［１］から［３１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３４］

抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、［１］から［３３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３５］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３４］に記載の製造方法。

［３６］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３４］に記載の製造方法。

［３７］

抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、［１］から［３３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３８］

抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３７］に記載の製造方法。

［３９］

抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［３８］に記載の製造方法。

[0024] ［４０］

抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、［１］から［３３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［４１］

抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［４０］に記載の製造方法。

［４２］

抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［４１］に記載の製造方法。

［４３］

抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、［１］から［３３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［４４］

抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［４３］に記載の製造方法。

［４５］

抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［４４］に記載の製造方法。

［４６］

クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、［１］から［４５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［４７］

クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、［４６］に記載の製造方法。

［４８］

［１］から［４７］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

［４９］

緩衝液がヒスチジン緩衝液である、［４８］に記載の製造方法。

［５０］

賦形剤がスクロースである、［４８］又は［４９］に記載の製造方法。

［５１］

賦形剤がトレハロースである、［４８］又は［４９］に記載の製造方法。

［５２］

［４８］から［５１］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

［５３］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［５２］に記載の製造方法。

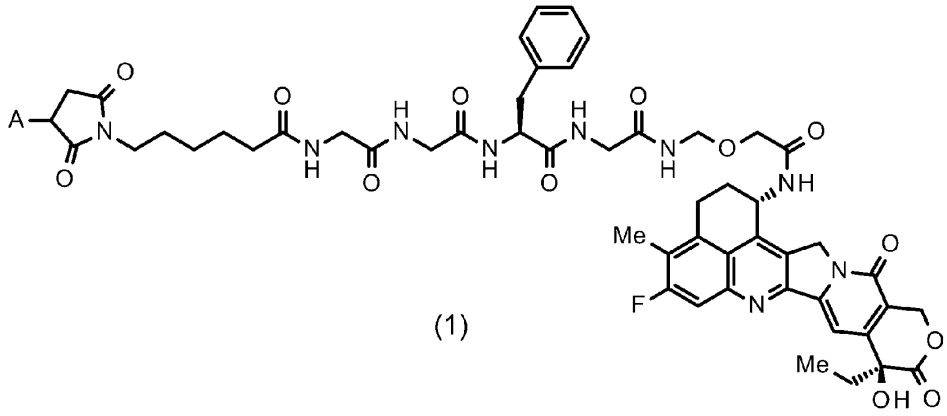
［５４］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［５２］に記載の製造方法。

［５５］

式（１）

[0025] [化5]



(1)

[0026] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

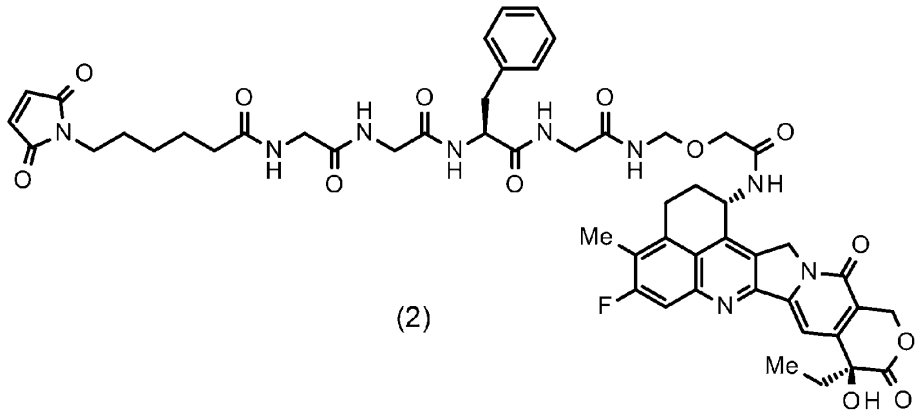
で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0027]

[化6]



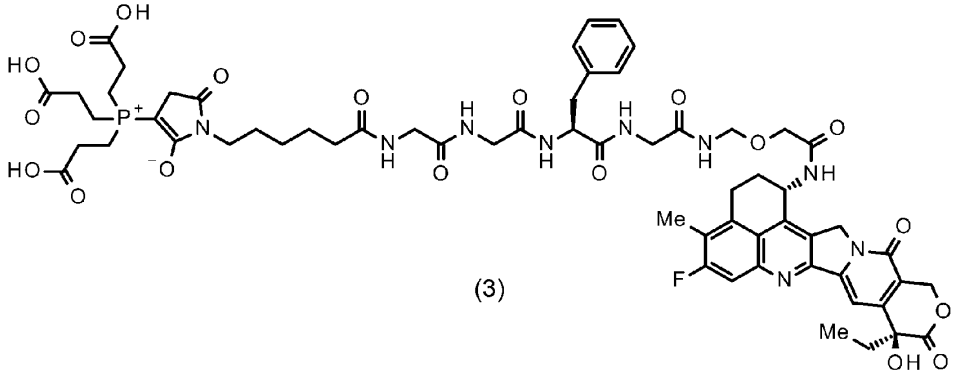
(2)

[0028] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、

（ｉｉｉ）Ｎ－アセチルシステインを添加し、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させる工程、次いで、

（ｉｖ）塩化ナトリウムを含有するヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、式（３）

[0029] [化7]

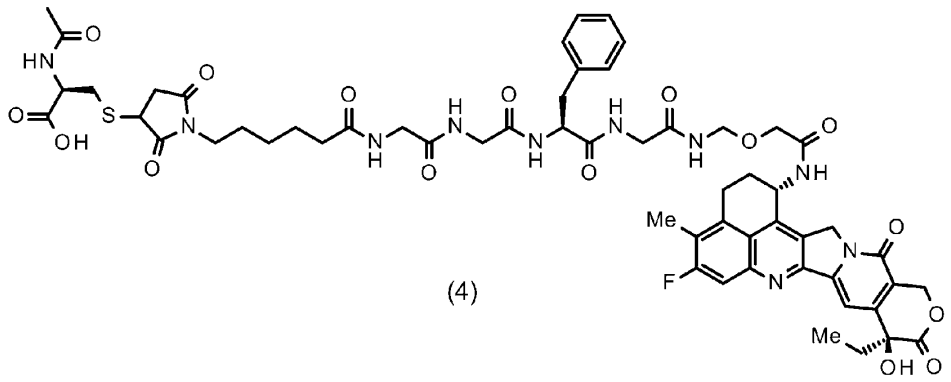


(3)

[0030] で表される化合物、及び、式（４）

[0031]

[化8]



(4)

[0032] で表される化合物を除去する工程、

を含むことを特徴とする、製造方法。

［５６］

（ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、［５５］に記載の製造方法。

［５７］

緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、［５６］に記載の製造方法。

［５８］

緩衝液が、酢酸緩衝液である、［５６］又は［５７］に記載の製造方法。

［５９］

（ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、［５５］から［５８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［６０］

キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、［５９］に記載の製造方法。

［６１］

（ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、［５６］から［６０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［６２］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［６１］に記載の製造方法。

［６３］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［６１］に記載の製造方法。

［６４］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［５５］から［６３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［６５］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［５５］から［６３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［６６］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［５５］から［６３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［６７］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［５５］から［６３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［６８］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［５５］から［６３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［６９］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、［５５］から［６８］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0033] ［７０］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、［５５］から［６８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［７１］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．４～０．６重量％である、［５５］から［６８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［７２］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．５重量％である、［５５］から［６８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［７３］

（ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）ヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、塩化ナトリウムを除去する工程、

を含む、［５５］から［７２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［７４］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、［７３］に記載の製造方法。

［７５］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［７３］に記載の製造方法。

［７６］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［７３］に記載の製造方法。

［７７］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［７３］に記載の製造方法。

［７８］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［７３］に記載の製造方法。

［７９］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［７３］に記載の製造方法。

［８０］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、［５５］から［７９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［８１］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、［５５］から［７９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［８２］

抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、［５５］から［８１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［８３］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［８２］に記載の製造方法。

［８４］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［８２］に記載の製造方法。

［８５］

抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、［５５］から［８１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［８６］

抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［８

５］に記載の製造方法。

［８７］

抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［８６］に記載の製造方法。

［８８］

抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、［５５］から［８１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［８９］

抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［８８］に記載の製造方法。

[0034] ［９０］

抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［８９］に記載の製造方法。

［９１］

抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、［５５］から［８１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［９２］

抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［９１］に記載の製造方法。

［９３］

抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［９２］に記載の製造方法。

［９４］

クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、［５５

］から［９３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［９５］

クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、［９４］に記載の製造方法。

［９６］

［５５］から［９５］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

［９７］

緩衝液がヒスチジン緩衝液である、［９６］に記載の製造方法。

［９８］

賦形剤がスクロースである、［９６］又は［９７］に記載の製造方法。

［９９］

賦形剤がトレハロースである、［９６］又は［９７］に記載の製造方法。

［１００］

［９６］から［９９］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに

、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

［１０１］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［１００］に記載の製造方法。

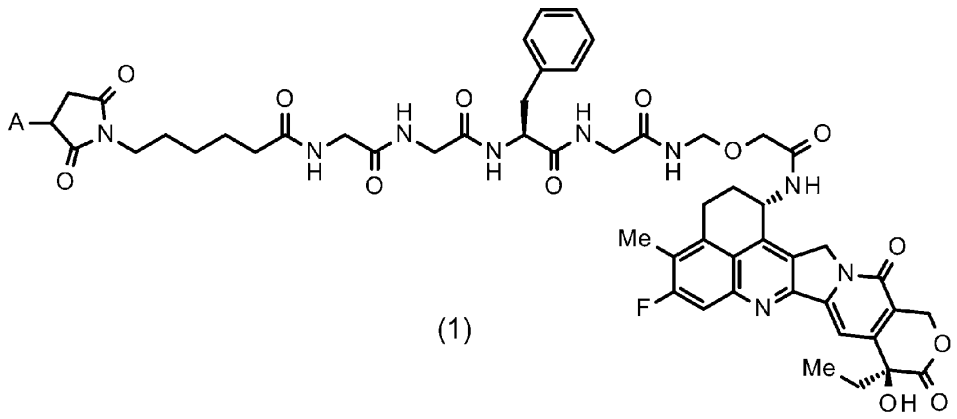
［１０２］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［１００］に記載の製造方法。

［１０３］

式（１）

[0035] [化9]



(1)

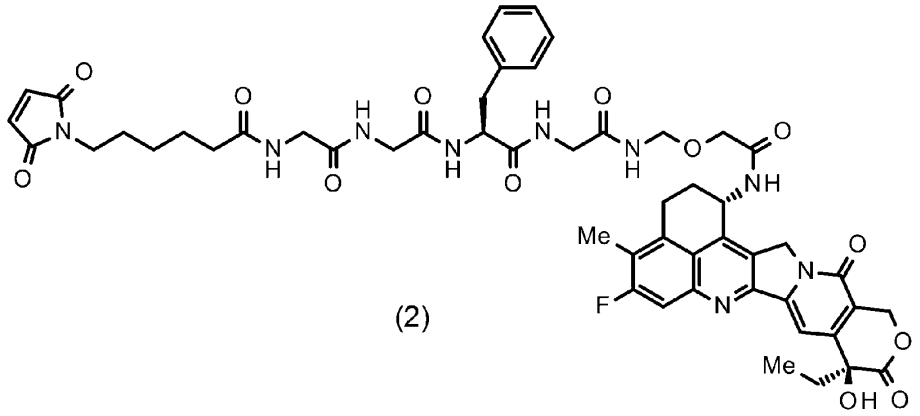
[0036] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、還元剤で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0037] [化10]



(2)

[0038] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、次いで、

（ｉｉｉ）チオール基を有する試薬を添加する工程、によって得られた、該抗体－薬物コンジュゲートの未精製物又は粗精製物を含む溶液を、

（ｉｖ）強酸と強塩基からなる塩を含有する緩衝液を用いた限外濾過により、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉ）の工程で使用される還元剤が付加した化合物、及び、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が付加した化合物を除去する工程、

により精製することを特徴とする、製造方法。

［１０４］

（ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン又はその塩である、［１０３］に記載の製造方法。

［１０５］

（ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩である、［１０３］に記載の製造方法。

［１０６］

（ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、［１０３］から［１０５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１０７］

緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、［１０６］に記載の製造方法。

［１０８］

緩衝液が、酢酸緩衝液である、［１０６］又は［１０７］に記載の製造方法。

［１０９］

（ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、［１０３］から［１０８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１１０］

キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、［１０９］に記載の製造方法。

［１１１］

（ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、［１０６］から［１１０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１１２］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［１１１］に記載の製造方法。

［１１３］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［１１１］に記載の製造方法。

［１１４］

（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が、Ｎ－アセチルシステインである、［１０３］から［１１３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１１５］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［１０３］から［１１４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１１６］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［１０３］から［１１４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１１７］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［１０３］から［１１４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１１８］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［１０３］から［１１４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１１９］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［１０３］から［１１４］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0039] ［１２０］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、［１０３］から［１１９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１２１］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、［１０３］から［１２０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１２２］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、［１０３］から［１２０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１２３］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）

の工程で使用される緩衝液に対し０．４～０．６重量％である、［１０３］から［１２０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１２４］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．５重量％である、［１０３］から［１２０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１２５］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩が、塩化ナトリウムである、［１０３］から［１２４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１２６］

（ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）緩衝液を用いた限外濾過により、強酸と強塩基からなる塩を除去する工程、

を含む、［１０３］から［１２５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１２７］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、［１２６］に記載の製造方法。

［１２８］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［１２６］に記載の製造方法。

［１２９］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［１２６］に記載の製造方法。

［１３０］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［１２６］に記載の製造方法。

［１３１］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、

［１２６］に記載の製造方法。

［１３２］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［１２６］に記載の製造方法。

［１３３］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、［１２６］から［１３２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１３４］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、［１０３］から［１３３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１３５］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、［１０３］から［１３３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１３６］

抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、［１０３］から［１３５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１３７］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１３６］に記載の製造方法。

［１３８］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１３６］に記載の製造方法。

［１３９］

抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、［１０３］から［１３５］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0040] ［１４０］

抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１３９］に記載の製造方法。

［１４１］

抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［１４０］に記載の製造方法。

［１４２］

抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、［１０３］から［１３５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１４３］

抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１４２］に記載の製造方法。

［１４４］

抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［１４３］に記載の製造方法。

［１４５］

抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、［１０３］から［１３５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１４６］

抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１４５］に記載の製造方法。

［１４７］

抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［１４６］に記載の製造方法。

［１４８］

クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、［１０３］から［１４７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１４９］

クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、［１４８］に記載の製造方法。

［１５０］

［１０３］から［１４９］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

［１５１］

緩衝液がヒスチジン緩衝液である、［１５０］に記載の製造方法。

［１５２］

賦形剤がスクロースである、［１５０］又は［１５１］に記載の製造方法

。

［１５３］

賦形剤がトレハロースである、［１５０］又は［１５１］に記載の製造方法。

［１５４］

［１５０］から［１５３］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

［１５５］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［１５４］に記載の製造方法。

［１５６］

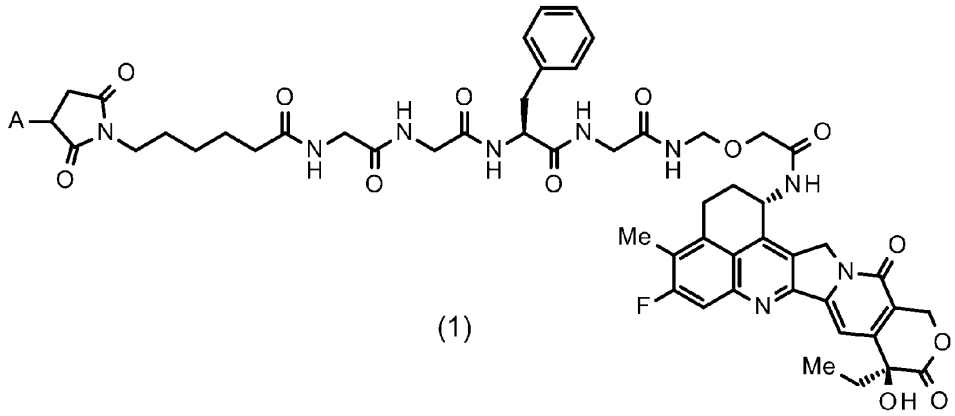
界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［１５４］に記載の製造方法。

［１５７］

式（１）

[0041]

[化11]



(1)

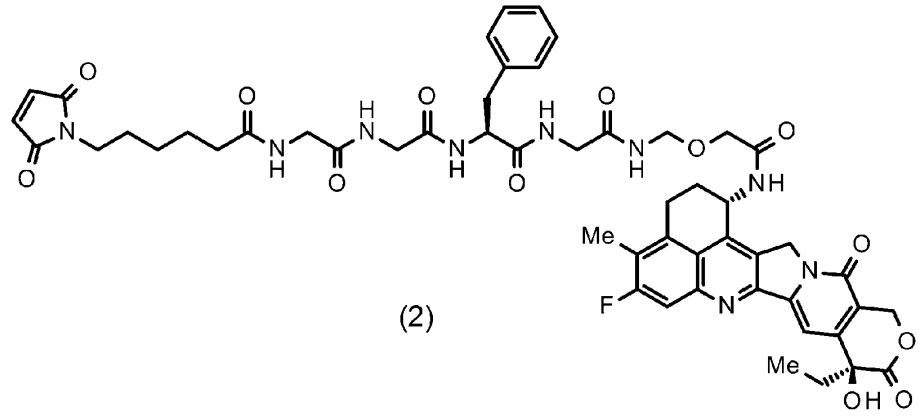
[0042] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0043] [化12]



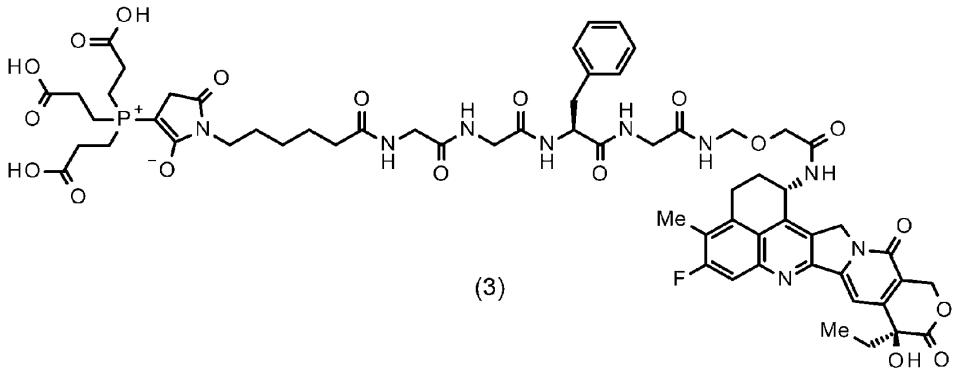
(2)

[0044] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、次いで、

（ｉｉｉ）Ｎ－アセチルシステインを添加する工程、によって得られた、該抗体－薬物コンジュゲートの未精製物又は粗精製物を含む溶液を、

（ｉｖ）塩化ナトリウムを含有するヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、式（３）

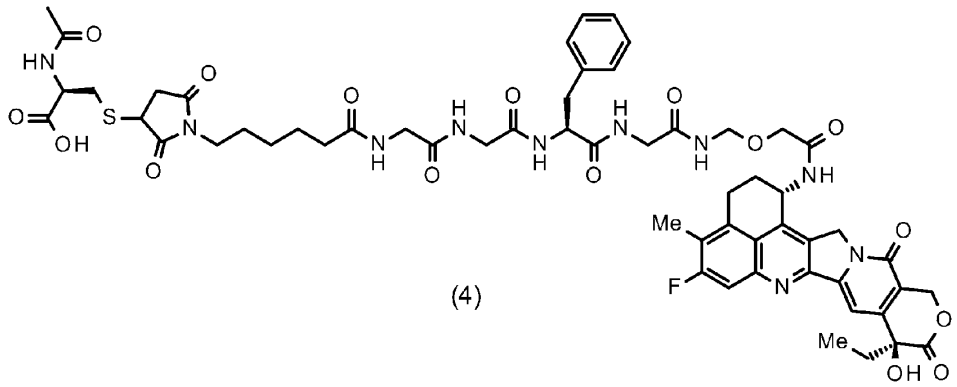
[0045] [化13]



(3)

[0046] で表される化合物、及び、式（４）

[0047] [化14]



(4)

[0048] で表される化合物を除去する工程、

により精製することを特徴とする、製造方法。

［１５８］

（ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、［１５７］に記載の製造方法。

［１５９］

緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、［１５８］に記載の製造方法。

［１６０］

緩衝液が、酢酸緩衝液である、［１５８］又は［１５９］に記載の製造方法。

［１６１］

（ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、［１５７］から［１６０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１６２］

キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、［１６１］に記載の製造方法。

[0049]

［１６３］

（ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、［１５８］から［１６２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１６４］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［１６３］に記載の製造方法。

［１６５］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［１６３］に記載の製造方法。

［１６６］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［１５７］から

［１６５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１６７］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［１５７］から［１６５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１６８］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［１５７］から［１６５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１６９］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［１５７］から［１６５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１７０］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［１５７］から［１６５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１７１］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、［１５７］から［１７０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１７２］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、［１５７］から［１７０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１７３］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．４～０．６重量％である、［１５７］から［１７０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１７４］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．５重量％である、［１５７］から［１７０］の

いずれか１項に記載の製造方法。

［１７５］

（ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）ヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、塩化ナトリウムを除去する工程、

を含む、［１５７］から［１７４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１７６］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、［１７５］に記載の製造方法。

［１７７］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［１７５］に記載の製造方法。

［１７８］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［１７５］に記載の製造方法。

［１７９］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［１７５］に記載の製造方法。

[0050] ［１８０］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［１７５］に記載の製造方法。

［１８１］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［１７５］に記載の製造方法。

［１８２］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、［１５７］から［１８１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１８３］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、［１５７］から［１８１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１８４］

抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、［１５７］から［１８３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１８５］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１８４］に記載の製造方法。

［１８６］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１８４］に記載の製造方法。

［１８７］

抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、［１５７］から［１８３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１８８］

抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１８７］に記載の製造方法。

［１８９］

抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［１８８］に記載の製造方法。

[0051] ［１９０］

抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、［１５７］から［１８３］のいずれか

１項に記載の製造方法。

［１９１］

抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１９０］に記載の製造方法。

［１９２］

抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［１９１］に記載の製造方法。

［１９３］

抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、［１５７］から［１８３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１９４］

抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［１９３］に記載の製造方法。

［１９５］

抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［１９４］に記載の製造方法。

［１９６］

クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、［１５７］から［１９５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［１９７］

クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、［１９６］に記載の製造方法。

［１９８］

［１５７］から［１９７］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

［１９９］

緩衝液がヒスチジン緩衝液である、［１９８］に記載の製造方法。

[0052] ［２００］

賦形剤がスクロースである、［１９８］又は［１９９］に記載の製造方法。

［２０１］

賦形剤がトレハロースである、［１９８］又は［１９９］に記載の製造方法。

［２０２］

［１９８］から［２０１］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組

成物の製造方法。

［２０３］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［２０２］に記載の製造方法。

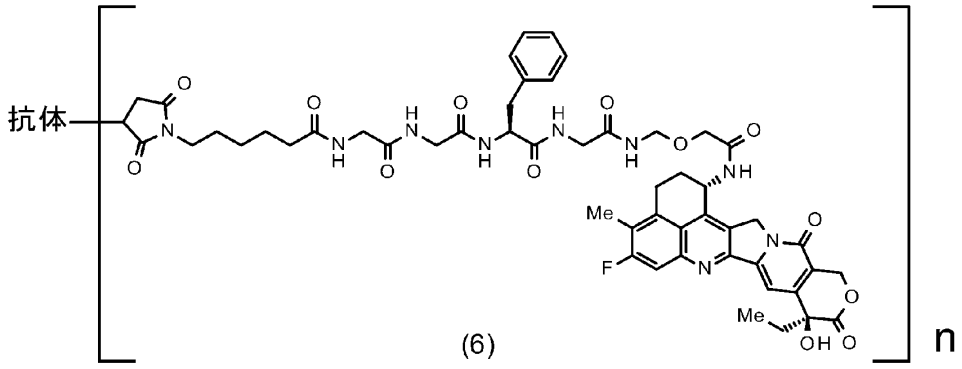
［２０４］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［２０２］に記載の製造方法。

［２０５］

式（６）

[0053] [化15]



[0054] （式中、薬物リンカーは抗体とチオエーテル結合によって結合しており、ｎは１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す）

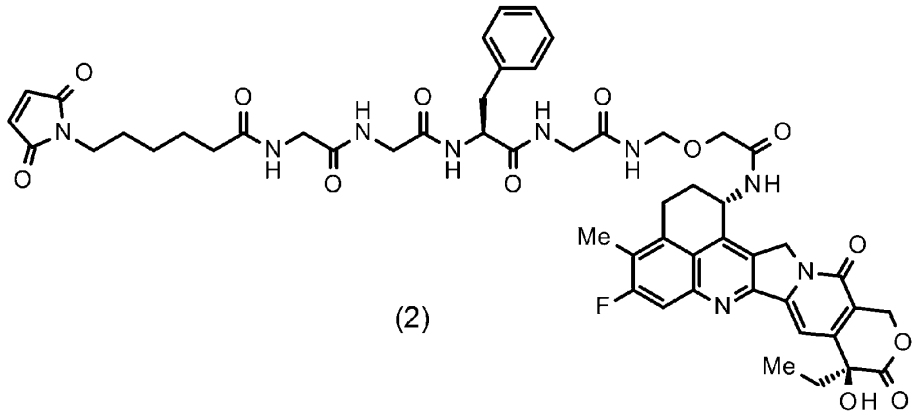
で示される抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、還元剤で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0055]

[化16]



(2)

[0056]で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、

（ｉｉｉ）チオール基を有する試薬を添加し、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させる工程、次いで、

（ｉｖ）強酸と強塩基からなる塩を含有する緩衝液を用いた限外濾過により、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉ）の工程で使用される還元剤が付加した化合物、及び、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が付加した化合物を除去する工程、

を含むことを特徴とする、製造方法。

［２０６］

（ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン又はその塩である、［２０５］に記載の製造方法。

［２０７］

（ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩である、［２０５］に記載の製造方法。

［２０８］

（ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、［２０５］から［２０７］のいずれ

か１項に記載の製造方法。

［２０９］

緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、［２０８］に記載の製造方法。

［２１０］

緩衝液が、酢酸緩衝液である、［２０８］又は［２０９］に記載の製造方法。

［２１１］

（ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、［２０５］から［２１０］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２１２］

キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、［２１１］に記載の製造方法。

［２１３］

（ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、［２０８］から［２１２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２１４］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［２１３］に記載の製造方法。

［２１５］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［２１３］に記載の製造方法。

［２１６］

（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が、Ｎ－アセチルシステインである、［２０５］から［２１５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２１７］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［２０５］から

［２１６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２１８］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［２０５］から［２１６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２１９］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［２０５］から［２１６］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0057] ［２２０］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［２０５］から［２１６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２１］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［２０５］から［２１６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２２］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、［２０５］から［２２１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２３］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、［２０５］から［２２２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２４］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、［２０５］から［２２２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２５］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．４～０．６重量％である、［２０５］から［２２２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２６］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．５重量％である、［２０５］から［２２２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２７］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩が、塩化ナトリウムである、［２０５］から［２２６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２８］

（ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）緩衝液を用いた限外濾過により、強酸と強塩基からなる塩を除去する工程、

を含む、［２０５］から［２２７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２２９］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、［２２８］に記載の製造方法。

[0058] ［２３０］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［２２８］に記載の製造方法。

［２３１］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［２２８］に記載の製造方法。

［２３２］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［２２８］に記載の製造方法。

［２３３］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［２２８］に記載の製造方法。

［２３４］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［２２８］に記載の製造方法。

［２３５］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、［２２８］から［２３４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２３６］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、［２０５］から［２３５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２３７］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、［２０５］から［２３５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２３８］

抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、［２０５］から［２３７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２３９］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２３８］に記載の製造方法。

[0059] ［２４０］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２３８］に記載の製造方法。

［２４１］

抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、［２０５］から［２３７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２４２］

抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２４１］に記載の製造方法。

［２４３］

抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［２４２］に記載の製造方法。

［２４４］

抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、［２０５］から［２３７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２４５］

抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２４４］に記載の製造方法。

［２４６］

抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［２４５］に記載の製造方法。

［２４７］

抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、［２０５］から［２３７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２４８］

抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２４７］に記載の製造方法。

［２４９］

抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［

２４８］に記載の製造方法。

[0060] ［２５０］

クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、［２０５］から［２４９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２５１］

クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、［２５０］に記載の製造方法。

［２５２］

［２０５］から［２５１］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

［２５３］

緩衝液がヒスチジン緩衝液である、［２５２］に記載の製造方法。

［２５４］

賦形剤がスクロースである、［２５１］又は［２５２］に記載の製造方法。

［２５５］

賦形剤がトレハロースである、［２５１］又は［２５２］に記載の製造方法。

［２５６］

［２５２］から［２５５］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

［２５７］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［２５６］に記載の製造方法。

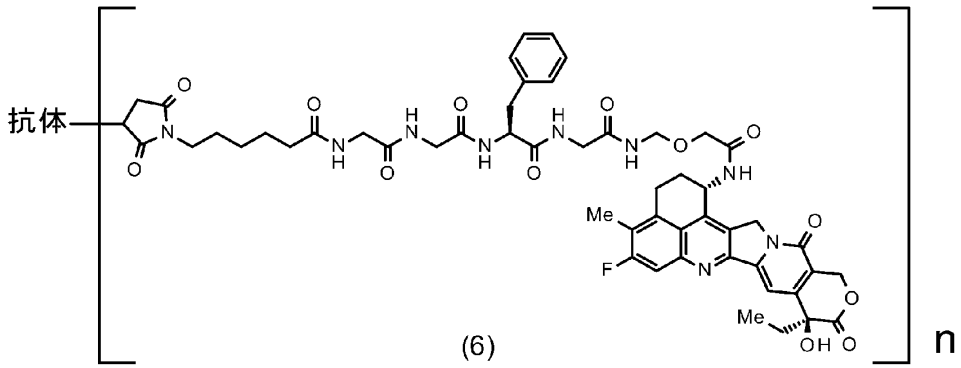
［２５８］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［２５６］に記載の製造方法。

［２５９］

式（６）

[0061] [化17]



(6)

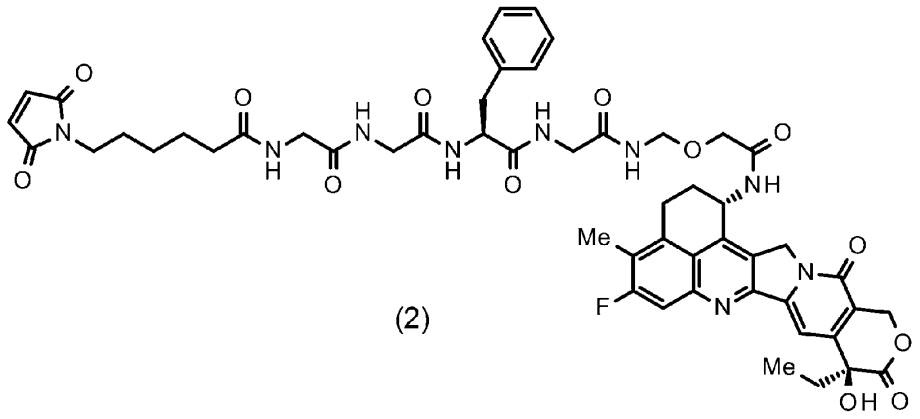
[0062] （式中、薬物リンカーは抗体とチオエーテル結合によって結合しており、ｎは１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す）

で示される抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0063] [化18]



(2)

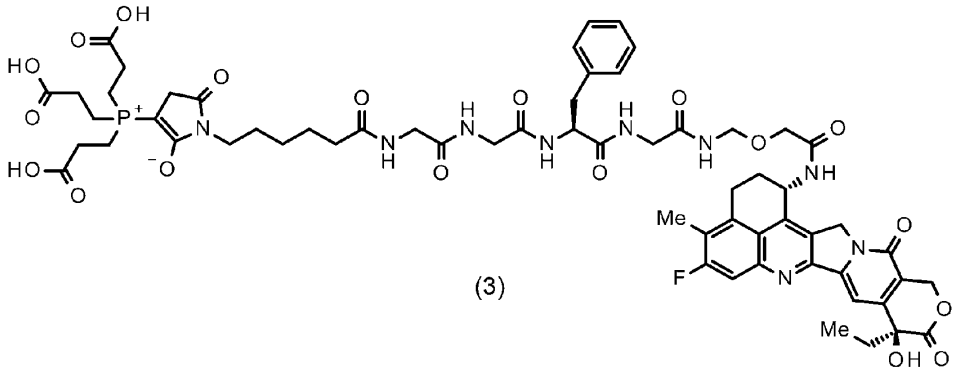
[0064] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、

（ｉｉｉ）Ｎ－アセチルシステインを添加し、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させる工程、次いで、

（ｉｖ）塩化ナトリウムを含有するヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、式（３）

[0065]

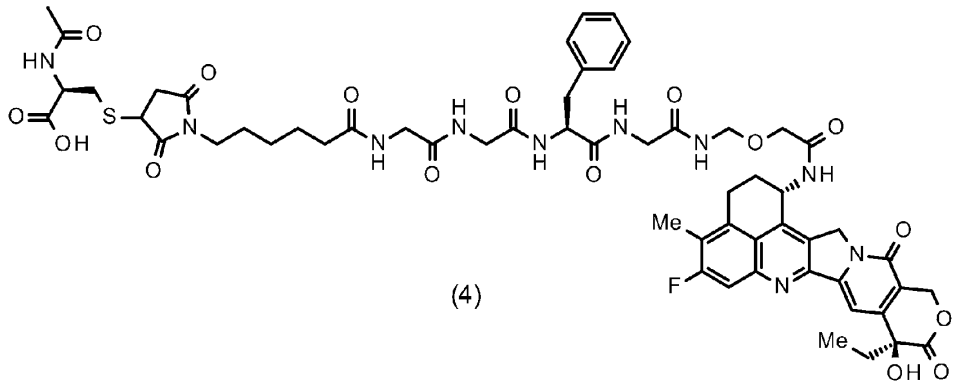
[化19]



(3)

[0066] で表される化合物、及び、式（４）

[0067] [化20]



(4)

[0068] で表される化合物を除去する工程、

を含むことを特徴とする、製造方法。

［２６０］

（ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、［２５９］に記載の製造方法。

［２６１］

緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝

液である、［２６０］に記載の製造方法。

［２６２］

緩衝液が、酢酸緩衝液である、［２６０］又は［２６１］に記載の製造方法。

［２６３］

（ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、［２５９］から［２６２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２６４］

キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、［２６３］に記載の製造方法。

［２６５］

（ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、［２６０］から［２６４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２６６］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［２６５］に記載の製造方法。

［２６７］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［２６５］に記載の製造方法。

［２６８］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［２５９］から［２６７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２６９］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［２５９］から［２６７］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0069] ［２７０］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［２５９］から［２６７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２７１］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［２５９］から［２６７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２７２］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［２５９］から［２６７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２７３］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、［２５９］から［２７２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２７４］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、［２５９］から［２７２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２７５］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．４～０．６重量％である、［２５９］から［２７２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２７６］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．５重量％である、［２５９］から［２７２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２７７］

（ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）ヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、塩化ナトリウムを除去する工程、

を含む、［２５９］から［２７６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２７８］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、［２７７］に記載の製造方法。

［２７９］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［２７７］に記載の製造方法。

[0070] ［２８０］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［２７７］に記載の製造方法。

［２８１］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［２７７］に記載の製造方法。

［２８２］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［２７７］に記載の製造方法。

［２８３］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［２７７］に記載の製造方法。

［２８４］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、［２５９］から［２８３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２８５］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、［２５９］から［２８３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２８６］

抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、［２５９］から［２８５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２８７］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２８６］に記載の製造方法。

［２８８］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２８６］に記載の製造方法。

［２８９］

抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、［２５９］から［２８５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２９０］

抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２８９］に記載の製造方法。

［２９１］

抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［２９０］に記載の製造方法。

［２９２］

抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、［２５９］から［２８５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２９３］

抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２９２］に記載の製造方法。

［２９４］

抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［２９３］に記載の製造方法。

［２９５］

抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、［２５９］から［２８５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２９６］

抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［２９５］に記載の製造方法。

［２９７］

抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［２９６］に記載の製造方法。

［２９８］

クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、［２５９］から［２９７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［２９９］

クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、［２９８］に記載の製造方法。

[0071] ［３００］

［２５９］から［２９９］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

［３０１］

緩衝液がヒスチジン緩衝液である、［３００］に記載の製造方法。

［３０２］

賦形剤がスクロースである、［３００］又は［３０１］に記載の製造方法。

［３０３］

賦形剤がトレハロースである、［３００］又は［３０１］に記載の製造方法。

［３０４］

［３００］から［３０３］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

［３０５］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［３０４］に記載の製造方法。

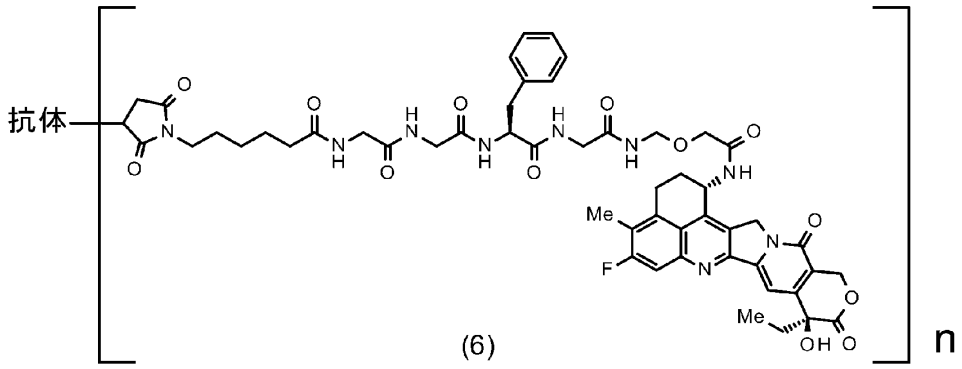
［３０６］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［３０４］に記載の製造方法。

［３０７］

式（６）

[0072] [化21]



(6)

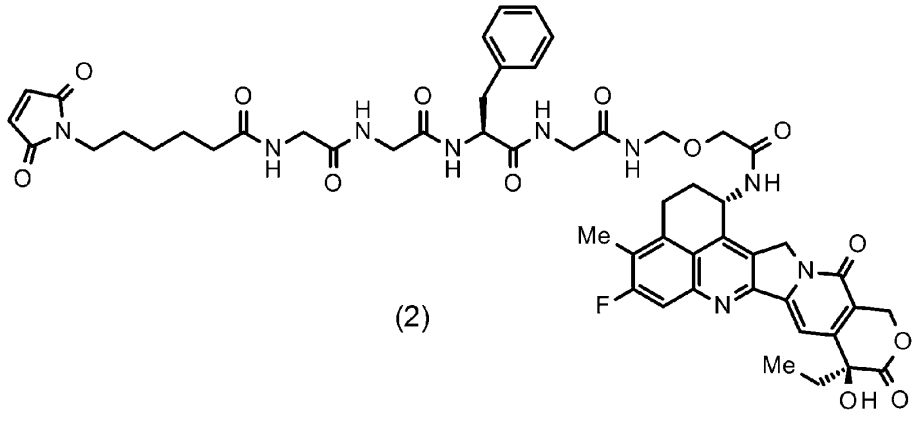
[0073] （式中、薬物リンカーは抗体とチオエーテル結合によって結合しており、ｎは１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す）

で示される抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、還元剤で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0074] [化22]



(2)

[0075] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、次いで、

（ｉｉｉ）チオール基を有する試薬を添加する工程、によって得られた、該抗体－薬物コンジュゲートの未精製物又は粗精製物を含む溶液を、

（ｉｖ）強酸と強塩基からなる塩を含有する緩衝液を用いた限外濾過により、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉ）の工程で使用される還元剤が付加した化合物、及び、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が付加した化合物を除去する工程、

により精製することを特徴とする、製造方法。

［３０８］

（ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン又はその塩である、［３０７］に記載の製造方法。

［３０９］

（ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩である、［３０７］に記載の製造方法。

［３１０］

（ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、［３０７］から［３０９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３１１］

緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、［３１０］に記載の製造方法。

［３１２］

緩衝液が、酢酸緩衝液である、［３１０］又は［３１１］に記載の製造方法。

［３１３］

（ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、［３０７］から［３１２］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３１４］

キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、［３１３］に記載の製造方法。

［３１５］

（ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、［３１０］から［３１４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３１６］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［３１５］に記載の製造方法。

［３１７］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［３１５］に記載の製造方法。

［３１８］

（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が、Ｎ－アセチルシステインである、［３０７］から［３１７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３１９］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［３０７］から［３１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0076] ［３２０］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［３０７］から［３１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２１］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［３０７］から［３１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２２］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［３０７］から［３１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２３］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［３０７］から［３１８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２４］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、［３０７］から［３２３］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２５］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、［３０７］から［３２４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２６］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、［３０７］から［３２４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２７］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．４～０．６重量％である、［３０７］から［３２４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２８］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．５重量％である、［３０７］から［３２４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３２９］

（ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩が、塩化ナトリウムである、［３０７］から［３２８］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３３０］

（ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）緩衝液を用いた限外濾過により、強酸と強塩基からなる塩を除去す

る工程、

を含む、［３０７］から［３２９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３３１］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、［３３０］に記載の製造方法。

［３３２］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［３３０］に記載の製造方法。

［３３３］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［３３０］に記載の製造方法。

［３３４］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［３３０］に記載の製造方法。

［３３５］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［３３０］に記載の製造方法。

［３３６］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［３３０］に記載の製造方法。

［３３７］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、［３３０］から［３３６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３３８］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、［３０７］から［３３７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３３９］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、［３０７］から［３３７］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0077] ［３４０］

抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、［３０７］から［３３９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３４１］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３４０］に記載の製造方法。

［３４２］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３４０］に記載の製造方法。

［３４３］

抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、［３０７］から［３３９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３４４］

抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３４３］に記載の製造方法。

［３４５］

抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［３４４］に記載の製造方法。

［３４６］

抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、［３０７］から［３３９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３４７］

抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３４６］に記載の製造方法。

［３４８］

抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［３４７］に記載の製造方法。

［３４９］

抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、［３０７］から［３３９］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0078] ［３５０］

抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３４９］に記載の製造方法。

［３５１］

抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［３５０］に記載の製造方法。

［３５２］

クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、［３０７］から［３５１］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３５３］

クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、［３５２］に記載の製造方法。

［３５４］

［３０７］から［３５３］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

［３５５］

緩衝液がヒスチジン緩衝液である、［３５４］に記載の製造方法。

［３５６］

賦形剤がスクロースである、［３５４］又は［３５５］に記載の製造方法。

［３５７］

賦形剤がトレハロースである、［３５４］又は［３５５］に記載の製造方法。

［３５８］

［３５４］から［３５７］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

［３５９］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［３５８］に記載の製造方法。

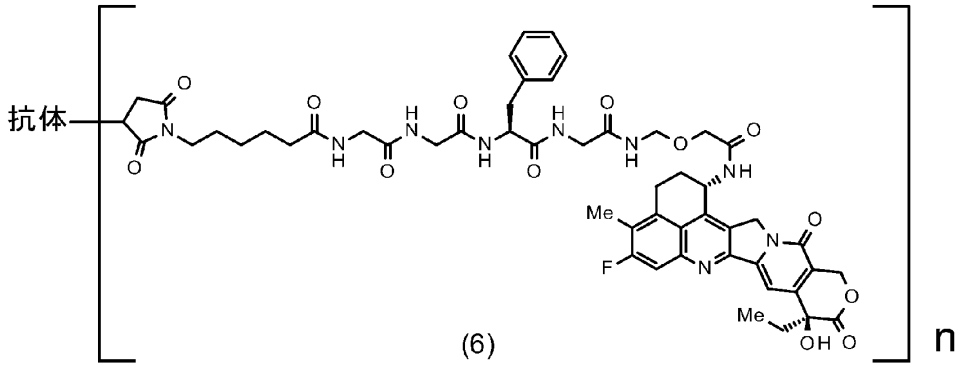
［３６０］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［３５８］に記載の製造方法。

［３６１］

式（６）

[0079] [化23]



[0080] （式中、薬物リンカーは抗体とチオエーテル結合によって結合しており、ｎは１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す）

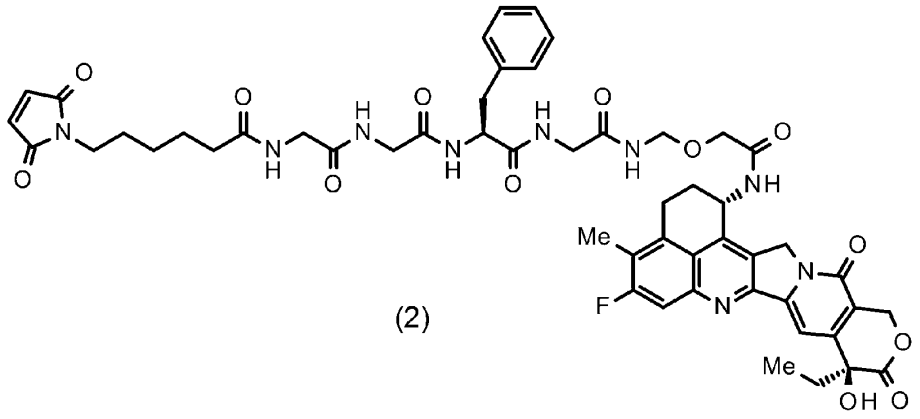
で示される抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0081]

[化24]



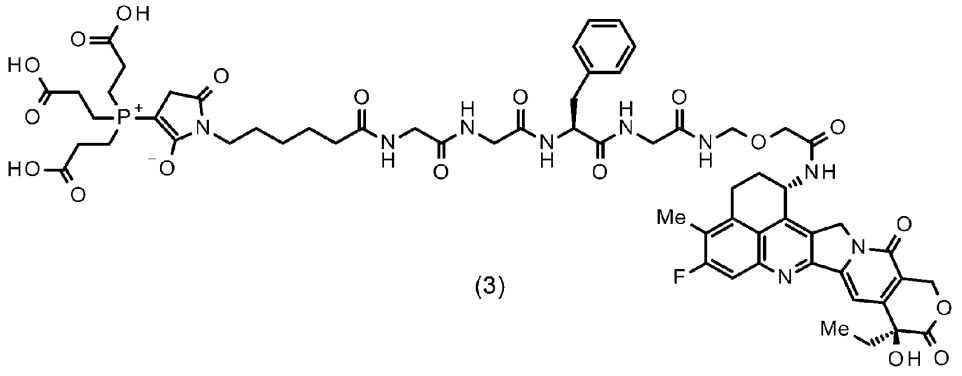
(2)

[0082] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、次いで、

（ｉｉｉ）Ｎ－アセチルシステインを添加する工程、によって得られた、該抗体－薬物コンジュゲートの未精製物又は粗精製物を含む溶液を、

（ｉｖ）塩化ナトリウムを含有するヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、式（３）

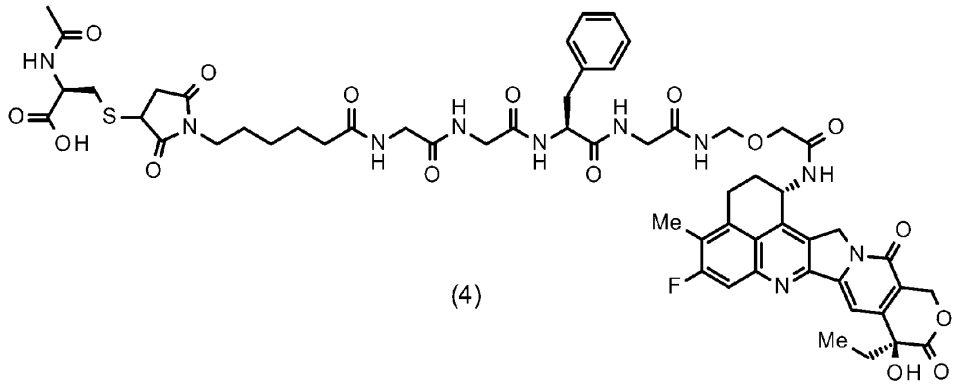
[0083] [化25]



(3)

[0084] で表される化合物、及び、式（４）

[0085] [化26]



(4)

[0086] で表される化合物を除去する工程、

により精製することを特徴とする、製造方法。

［３６２］

（ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、［３６１］に記載の製造方法。

［３６３］

緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、［３６２］に記載の製造方法。

［３６４］

緩衝液が、酢酸緩衝液である、［３６２］又は［３６３］に記載の製造方法。

［３６５］

（ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、［３６１］から［３６４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３６６］

キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、［３６５］に記載の製造方法。

［３６７］

（ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、［３６２］

から［３６６］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３６８］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［３６７］に記載の製造方法。

［３６９］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［３６７］に記載の製造方法。

［３７０］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［３６１］から［３６９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７１］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［３６１］から［３６９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７２］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［３６１］から［３６９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７３］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［３６１］から［３６９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７４］

（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［３６１］から［３６９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７５］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、［３６１］から［３７４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７６］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で

使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、［３６１］から［３７４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７７］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．４～０．６重量％である、［３６１］から［３７４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７８］

（ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．５重量％である、［３６１］から［３７４］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３７９］

（ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）ヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、塩化ナトリウムを除去する工程、

を含む、［３６１］から［３７８］のいずれか１項に記載の製造方法。

[0087] ［３８０］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、［３７９］に記載の製造方法。

［３８１］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、［３７９］に記載の製造方法。

［３８２］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．７～５．３の範囲である、［３７９］に記載の製造方法。

［３８３］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．８～５．２の範囲である、［３７９］に記載の製造方法。

［３８４］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４．９～５．１の範囲である、［３７９］に記載の製造方法。

［３８５］

（ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが５．０である、［３７９］に記載の製造方法。

［３８６］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、［３６１］から［３８５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３８７］

抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、［３６１］から［３８５］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３８８］

抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、［３６１］から［３８７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３８９］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３８８］に記載の製造方法。

[0088] ［３９０］

抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３８８］に記載の製造方法。

［３９１］

抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、［３６１］から［３８７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３９２］

抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３９１］に記載の製造方法。

［３９３］

抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［３９２］に記載の製造方法。

［３９４］

抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、［３６１］から［３８７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３９５］

抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３９４］に記載の製造方法。

［３９６］

抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［３９５］に記載の製造方法。

［３９７］

抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、［３６１］から［３８７］のいずれか１項に記載の製造方法。

［３９８］

抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、［３９７］に記載の製造方法。

［３９９］

抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［

３９８］に記載の製造方法。

[0089] ［４００］

クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、［３６１］から［３９９］のいずれか１項に記載の製造方法。

［４０１］

クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、［４００］に記載の製造方法。

［４０２］

［３６１］から［４０１］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

［４０３］

緩衝液がヒスチジン緩衝液である、［４０２］に記載の製造方法。

［４０４］

賦形剤がスクロースである、［４０１］又は［４０２］に記載の製造方法。

［４０５］

賦形剤がトレハロースである、［４０１］又は［４０２］に記載の製造方法。

［４０６］

［４０２］から［４０５］のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

［４０７］

界面活性剤が、ポリソルベート８０である、［４０６］に記載の製造方法。

［４０８］

界面活性剤が、ポリソルベート２０である、［４０６］に記載の製造方法。

［４０９］

［1］から［４７］、［５５］から［９５］、［１０３］から［１４９］、［１５７］から［１９７］、［２０５］から［２５１］、［２５９］から［２９９］、［３０７］から［３５３］、及び［３６１］から［４０１］のいずれか１項に記載の製造方法により製造された抗体－薬物コンジュゲート。

［４１０］

［４８］から［５４］、［９６］から［１０２］、［１５０］から［１５６］、［１９８］から［２０４］、［２５２］から［２５８］、［３００］から［３０６］、［３５４］から［３６０］、及び［４０２］から［４０８］のいずれか１項に記載の製造方法により製造された医薬組成物。

発明の効果

[0090] 本発明により、凝集体の生成を抑制しつつ式（２）で表される化合物由来の副生成物を効果的に除去するための精製工程を含む、抗体－薬物コンジュゲートの製造方法を提供することができる。さらに該抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の工業的に優れた製造方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0091] [図1]ヒスチジン緩衝液 （ｐＨ５．０）、又は０．５％塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を用いて限外濾過を行った場合の、化合物（３）及び化合物（４）の含有率を示した図である。

[図2]ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０、若しくはｐＨ５．８）、又は０．４％塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０、若しくはｐＨ５．８）を用いて限外濾過を行った場合の、凝集体の含有率を示した図である。

[図3]抗ＨＥＲ２抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号１）を示した図である。

[図4]抗ＨＥＲ２抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号２）を示した図である。

[図5]抗ＨＥＲ３抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号３）を示した図である。

[図6]抗ＨＥＲ３抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号４）を示した図である。

[図7]抗ＧＰＲ２０抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号５）を示した図である。

[図8]抗ＧＰＲ２０抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号６）を示した図である。

[図9]抗ＣＤＨ６抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号７）を示した図である。

[図10]抗ＣＤＨ６抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号８）を示した図である。

発明を実施するための形態

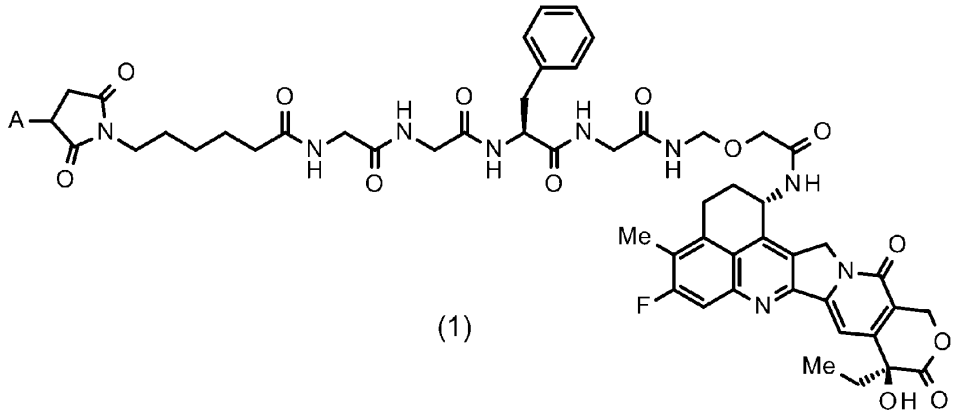
[0092] 以下、本発明を実施するための好適な形態について図面を参照しながら説明する。なお、以下に説明する実施形態は、本発明の代表的な実施形態の一例を示したものであり、これによって本発明の範囲が狭く解釈されることはない。

[0093] １．抗体－薬物コンジュゲート

本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートは、

式（１）

[0094] [化27]



(1)

[0095] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体－薬物コンジュゲートである。

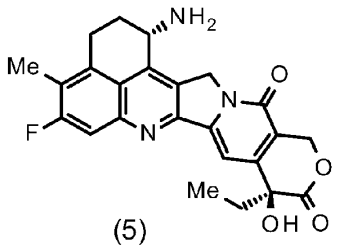
[0096] 本発明においては、抗体－薬物コンジュゲートのうち、リンカー及び薬物からなる部分構造を「薬物リンカー」と称する。この薬物リンカーは抗体の鎖間のジスルフィド結合部位（２箇所の重鎖－重鎖間、及び２箇所の重鎖－軽鎖間）において生じたチオール基（言い換えれば、システイン残基の硫黄原子）に結合している。

[0097] 本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートの薬物リンカーは、トポイソメラーゼＩ阻害剤であるエキサテカンを構成要素としている。エキサテカンは、

式（５）

[0098]

[化28]



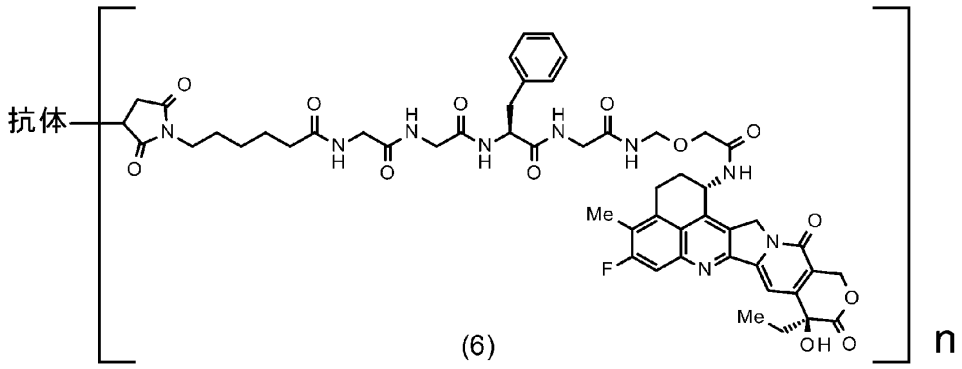
(5)

[0099] で示される、抗腫瘍効果を有するカンプトテシン誘導体である。

[0100] 本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートは、

式（６）

[0101] [化29]



(6)

[0102] で表されることもできる。

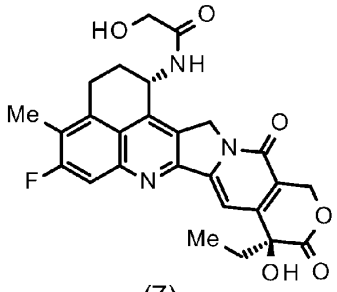
[0103] ここで、薬物リンカーは抗体とチオエーテル結合によって結合している。また、ｎはいわゆる平均薬物結合数（ＤＡＲ； Ｄｒｕｇ－ｔｏ－Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｒａｔｉｏ）と同義であり、１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す。

[0104] 本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートは、がん細胞内に移行した後に、

式（７）

[0105]

[化30]



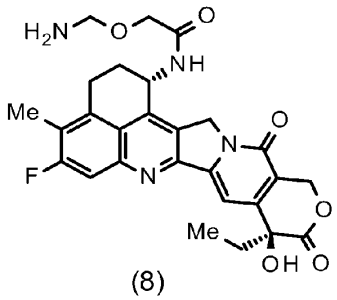
(7)

[0106] で表される化合物を遊離する。

[0107] 式（７）で表される化合物は、本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートの抗腫瘍活性の本体であると考えられ、トポイソメラーゼＩ阻害作用を有することが確認されている（Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research, 2016, Oct 15;22(20):5097-5108, Epub 2016 Mar 29）。

[0108] 式（７）で表される化合物は、本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートのリンカー部分が切断されることにより生じると考えられる、式（８）

[0109] [化31]



(8)

[0110] で表される化合物のアミナール構造が分解することにより生じると考えられ

る。

[0111] 本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートは、バイスタンダー効果を有することも知られている（Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046）。このバイスタンダー効果は、本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートが、標的発現がん細胞に内在化した後、式（７）で表される化合物が遊離され、標的を発現していない近傍のがん細胞に対しても抗腫瘍効果を及ぼすことにより発揮される。

[0112] ２．抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用される抗体

本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用される抗体は、いずれの種に由来してもよいが、好適には、ヒト、ラット、マウス、及びウサギに由来する抗体である。抗体がヒト以外の種に由来する場合は、周知の技術を用いて、キメラ化又はヒト化することが好ましい。本発明の抗体は、ポリクローナル抗体であっても、モノクローナル抗体であってもよいが、モノクローナル抗体が好ましい。

[0113] 本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用される抗体は、好適にはがん細胞を標的にできる性質を有するものであり、がん細胞を認識できる特性、がん細胞に結合できる特性、がん細胞内に取り込まれて内在化する特性、及び／又はがん細胞に対する殺細胞活性等を備えているものが好ましい。

[0114] 抗体のがん細胞への結合性は、フローサイトメトリーを用いて確認できる。がん細胞内への抗体の取り込みは、（１）治療抗体に結合する二次抗体（蛍光標識）を用いて細胞内に取り込まれた抗体を蛍光顕微鏡で可視化するアッセイ（Cell Death and Differentiation (2008) 15, 751-761）、（２）治療抗体に結合する二次抗体（蛍光標識）を用いて細胞内に取り込まれた蛍光量を測定するアッセイ（Molecular Biology of the Cell Vol. 15, 5268-5282, December 2004）、又は（３）治療抗体に結合するイムノトキシンを用いて、細胞内に取り込まれると毒素が放出されて細胞増殖が抑制されるというＭａｂ－ＺＡＰアッセイ（Bio Techniques 28:162-165, January 2000）を用いて確認できる。イムノトキシンとしては、ジフテテリア毒素の触媒領域と

プロテインＧとのリコンビナント複合蛋白質も使用可能である。

[0115] 抗体の抗腫瘍活性は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでは、細胞の増殖の抑制活性を測定することで確認できる。例えば、抗体の標的蛋白質を過剰発現しているがん細胞株を培養し、培養系に種々の濃度で抗体を添加し、フォーカス形成、コロニー形成及びスフェロイド増殖に対する抑制活性を測定することができる。ｉｎ　ｖｉｖｏでは、例えば、標的蛋白質を高発現しているがん細胞株を移植したヌードマウスに抗体を投与し、がん細胞の変化を測定することによって、抗腫瘍活性を確認できる。

[0116] 抗体自体が抗腫瘍効果を有することは、好ましいが、抗体－薬物コンジュゲートは抗腫瘍効果を発揮する化合物を結合させてあるので、抗体自体の抗腫瘍効果は必須ではない。抗腫瘍性化合物の細胞障害性をがん細胞において特異的・選択的に発揮させる目的からは、抗体が内在化してがん細胞内に移行する性質のあることが重要であり、好ましい。

[0117] 本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用される抗体は、公知の手段によって取得することができる。例えば、この分野で通常実施される方法を用いて、抗原となるポリペプチドを動物に免疫し、生体内に産生される抗体を採取、精製することによって得ることができる。抗原の由来はヒトに限定されず、マウス、ラット等のヒト以外の動物に由来する抗原を動物に免疫することもできる。この場合には、取得された異種抗原に結合する抗体とヒト抗原との交差性を試験することによって、ヒトの疾患に適用可能な抗体を選別できる。

[0118] また、公知の方法（例えば、Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p.495-497;Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, p.365-367, Plenum Press, N.Y.(1980)）に従って、抗原に対する抗体を産生する抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることによってハイブリドーマを樹立し、モノクローナル抗体を得ることもできる。

[0119] なお、抗原は抗原蛋白質をコードする遺伝子を遺伝子操作によって宿主細胞に産生させることによって得ることができる。具体的には、抗原遺伝子を

発現可能なベクターを作製し、これを宿主細胞に導入して該遺伝子を発現させ、発現した抗原を精製すればよい。上記の遺伝子操作による抗原発現細胞、或は抗原を発現している細胞株、を動物に免疫する方法を用いることによっても抗体を取得できる。

[0120] 本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用される抗体は、ヒトに対する異種抗原性を低下させること等を目的として人為的に改変した遺伝子組換え型抗体、例えば、キメラ（Ｃｈｉｍｅｒｉｃ）抗体、ヒト化（Ｈｕｍａｎｉｚｅｄ）抗体であることが好ましく、又はヒト由来の抗体の遺伝子配列のみを有する抗体、すなわちヒト抗体であることが好ましい。これらの抗体は、既知の方法を用いて製造することができる。

[0121] キメラ抗体としては、抗体の可変領域と定常領域が互いに異種である抗体、例えばマウス又はラット由来抗体の可変領域をヒト由来の定常領域に接合したキメラ抗体を挙げることができる（Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, 6851-6855,(1984)）。

[0122] ヒト化抗体としては、異種抗体の相補性決定領域（ＣＤＲ；ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｒｉｔｙ ｄｅｔｅｒｍｉｎｉｎｇ ｒｅｇｉｏｎ）のみをヒト由来の抗体に組み込んだ抗体（Nature(1986) 321, p.522-525）、ＣＤＲ移植法によって、異種抗体のＣＤＲの配列に加えて、異種抗体の一部のフレームワークのアミノ酸残基もヒト抗体に移植した抗体（国際公開第９０／０７８６１号）、遺伝子変換突然変異誘発（ｇｅｎｅ ｃｏｎｖｅｒｓｉｏｎ ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ）ストラテジーを用いてヒト化した抗体（米国特許第５８２１３３７号）を挙げることができる。

[0123] ヒト抗体としては、ヒト抗体の重鎖と軽鎖の遺伝子を含むヒト染色体断片を有するヒト抗体産生マウスを用いて作成した抗体（Tomizuka, K. et al., Nature Genetics(1997) 16, p.133-143;Kuroiwa, Y. et. al., Nucl. Acids Res.(1998) 26, p.3447-3448;Yoshida, H. et. al., Animal Cell Technology:Basic and Applied Aspects vol.10, p.69-73(Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999;Tomizuka, K.

et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA(2000) 97, p.722-727等を参照。）を挙げることができる。或いは、ヒト抗体ライブラリーより選別したファージディスプレイにより取得した抗体（Wormstone, I. M. et. al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002)43 (7), p.2301-2308;Carmen, S. et. al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics(2002), 1(2), p.189-203;Siriwardena, D. et. al., Ophthalmology(2002) 109(3), p.427-431等参照。）も挙げることができる。

[0124] 本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用される抗体には、抗体の修飾体も含まれる。当該修飾体とは、本発明に係る抗体に化学的又は生物学的な修飾が施されてなるものを意味する。化学的な修飾体には、アミノ酸骨格への化学部分の結合、Ｎ－結合又はＯ－結合炭水化物鎖への化学部分の結合を有する化学修飾体等が含まれる。生物学的な修飾体には、翻訳後修飾（例えば、Ｎ－結合又はＯ－結合型糖鎖の付加、Ｎ末端又はＣ末端のプロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化等）されたもの、原核生物宿主細胞を用いて発現させることによってＮ末にメチオニン残基が付加されたもの等が含まれる。また、本発明に係る抗体又は抗原の検出又は単離を可能にするために標識されたもの、例えば、酵素標識体、蛍光標識体、アフィニティ標識体もかかる修飾体の意味に含まれる。この様な本発明に係る抗体の修飾体は、抗体の安定性及び血中滞留性の改善、抗原性の低減、抗体又は抗原の検出又は単離等に有用である。

[0125] また、本発明に係る抗体に結合している糖鎖修飾を調節すること（グリコシル化、脱フコース化等）によって、抗体依存性細胞傷害活性を増強することが可能である。抗体の糖鎖修飾の調節技術としては、国際公開第９９／５４３４２号、国際公開第００／６１７３９号、国際公開第０２／３１１４０号等が知られているが、これらに限定されるものではない。本発明に係る抗体には当該糖鎖修飾が調節された抗体も含まれる。

[0126] なお、哺乳類培養細胞で生産される抗体では、その重鎖のカルボキシル末端のリシン残基が欠失することが知られており（Journal of Chromatography

A, 705: 129-134(1995))、また、同じく重鎖カルボキシル末端のグリシン、リシンの２アミノ酸残基が欠失し、新たにカルボキシル末端に位置するプロリン残基がアミド化されることが知られている（Analytical Biochemistry, 360: 75-83(2007)）。しかし、これらの重鎖配列の欠失及び修飾は、抗体の抗原結合能及びエフェクター機能（補体の活性化や抗体依存性細胞障害作用等）には影響を及ぼさない。したがって、本発明に係る抗体には、当該修飾を受けた抗体及び当該抗体の機能性断片も含まれ、重鎖カルボキシル末端において１又は２のアミノ酸が欠失した欠失体、及びアミド化された当該欠失体（例えば、カルボキシル末端部位のプロリン残基がアミド化された重鎖）等も包含される。但し、抗原結合能及びエフェクター機能が保たれている限り、本発明に係る抗体の重鎖のカルボキシル末端の欠失体は上記の種類に限定されない。本発明に係る抗体を構成する２本の重鎖は、完全長及び上記の欠失体からなる群から選択される重鎖のいずれか一種であってもよいし、いずれか二種を組み合わせたものであってもよい。各欠失体の量比は本発明に係る抗体を産生する哺乳類培養細胞の種類及び培養条件に影響を受け得るが、本発明に係る抗体は、好ましくは２本の重鎖の双方でカルボキシル末端のひとつのアミノ酸残基が欠失しているものを挙げることができる。

[0127] 本発明に係る抗体のアイソタイプとしては、例えばＩｇＧ（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）等を挙げることができるが、好ましくはＩｇＧ１又はＩｇＧ２を挙げることができる。

[0128] 本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用できる抗体は、特に制限はないが、例えば、抗ＨＥＲ２抗体、抗ＨＥＲ３抗体、抗ＴＲＯＰ２抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗ＣＤ３抗体、抗ＣＤ３０抗体、抗ＣＤ３３抗体、抗ＣＤ３７抗体、抗ＣＤ５６抗体、抗ＣＤ９８抗体、抗ＤＲ５抗体、抗ＥＧＦＲ抗体、抗ＥＰＨＡ２抗体、抗ＦＧＦＲ２抗体、抗ＦＧＦＲ４抗体、抗ＦＯＬＲ１抗体、抗ＶＥＧＦ抗体、抗ＣＤ２０抗体、抗ＣＤ２２抗体、抗ＣＤ７０抗体、抗ＰＳＭＡ抗体、抗ＣＥＡ抗体、抗Ｍｅｓｏｔｈｅｌｉｎ抗体、抗Ａ３３抗体、抗ＣａｎＡｇ抗体、抗Ｃｒｉｐｔｏ抗体、抗Ｇ２５０抗体、抗Ｍ

ＵＣ１抗体、抗ＧＰＮＭＢ抗体、抗Ｉｎｔｅｇｒｉｎ抗体、抗Ｔｅｎａｓｃｉｎ－Ｃ抗体、抗ＳＬＣ４４Ａ４抗体、抗ＧＰＲ２０抗体、及び抗ＣＤＨ６抗体を挙げることができ、好適には、抗ＨＥＲ２抗体、抗ＨＥＲ３抗体、抗ＴＲＯＰ２抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗ＧＰＲ２０抗体、及び抗ＣＤＨ６抗体を挙げることができ、より好適には、抗ＨＥＲ２抗体、抗ＨＥＲ３抗体、抗ＧＰＲ２０抗体、及び抗ＣＤＨ６抗体を挙げることができる。

[0129] 本発明において、「抗ＨＥＲ２抗体」とは、ＨＥＲ２（Ｈｕｍａｎ Ｅｐｉｄｅｒｍａｌ Ｇｒｏｗｔｈ ＦａｃｔｏｒＲｅｃｅｐｔｏｒ Ｔｙｐｅ ２； ＥｒｂＢ－２）に特異的に結合し、好ましくは、ＨＥＲ２と結合することによってＨＥＲ２発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。

[0130] 抗ＨＥＲ２抗体としては、例えば、トラスツズマブ（Ｔｒａｓｔｕｚｕｍａｂ）（米国特許第５８２１３３７号）、及び、ペルツズマブ（Ｐｅｒｔｕｚｕｍａｂ）（国際公開第０１／００２４５号）を挙げることができ、好適にはトラスツズマブを挙げることができる。

[0131] 本発明において、「抗ＨＥＲ３抗体」とは、ＨＥＲ３（Ｈｕｍａｎ Ｅｐｉｄｅｒｍａｌ Ｇｒｏｗｔｈ ＦａｃｔｏｒＲｅｃｅｐｔｏｒ Ｔｙｐｅ ３； ＥｒｂＢ－３）に特異的に結合し、好適には、ＨＥＲ３と結合することによってＨＥＲ３発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。

[0132] 抗ＨＥＲ３抗体としては、例えば、パトリツマブ（Ｐａｔｒｉｔｕｍａｂ； Ｕ３－１２８７）、Ｕ１－５９（国際公開第２００７／０７７０２８号）、ＭＭ－１２１（Ｓｅｒｉｂａｎｔｕｍａｂ）、国際公開２００８／１００６２４号記載の抗ＥＲＢＢ３抗体、ＲＧ－７１１６（Ｌｕｍｒｅｔｕｚｕｍａｂ）、及びＬＪＭ－７１６（Ｅｌｇｅｍｔｕｍａｂ）を挙げることができ、好適には、パトリツマブ、及びＵ１－５９を挙げることができる。

[0133] 本発明において、「抗ＴＲＯＰ２抗体」とは、ＴＲＯＰ２（ＴＡＣＳＴＤ２：Ｔｕｍｏｒ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ｃａｌｃｉｕｍ ｓｉｇｎａｌ ｔｒａｎｓｄｕｃｅｒ ２； ＥＧＰ－１）に特異的に結合し、好ましくは、ＴＲＯＰ２と結合することによってＴＲＯＰ２発現細胞に内在化する活性

を有する抗体を示す。

[0134] 抗ＴＲＯＰ２抗体としては、例えば、ｈＴＩＮＡ１－Ｈ１Ｌ１（国際公開第２０１５／０９８０９９号）を挙げることができる。

[0135] 本発明において、「抗Ｂ７－Ｈ３抗体」とは、Ｂ７－Ｈ３（Ｂ ｃｅｌｌ ａｎｔｉｇｅｎ ＃７ ｈｏｍｏｌｏｇ ３； ＰＤ－Ｌ３； ＣＤ２７６）に特異的に結合し、好ましくは、Ｂ７－Ｈ３と結合することによってＢ７－Ｈ３発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。

[0136] 抗Ｂ７－Ｈ３抗体としては、例えば、Ｍ３０－Ｈ１－Ｌ４（国際公開第２０１４／０５７６８７号）を挙げることができる。

[0137] 本発明において、「抗ＧＰＲ２０抗体」とは、ＧＰＲ２０（Ｇ Ｐｒｏｔｅｉｎ－ｃｏｕｐｌｅｄ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ２０）に特異的に結合し、好ましくは、ＧＰＲ２０と結合することによってＧＰＲ２０発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。

[0138] 抗ＧＰＲ２０抗体としては、例えば、ｈ０４６－Ｈ４ｅ／Ｌ７（国際公開第２０１８／１３５５０１号）を挙げることができる。

[0139] 本発明において、「抗ＣＤＨ６抗体」とは、ＣＤＨ６（Ｃａｄｈｅｒｉｎ－６）に特異的に結合し、好ましくは、ＣＤＨ６と結合することによってＣＤＨ６発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。

[0140] 抗ＣＤＨ６抗体としては、例えば、Ｈ０１Ｌ０２（国際公開第２０１８／２１２１３６号）を挙げることができる。

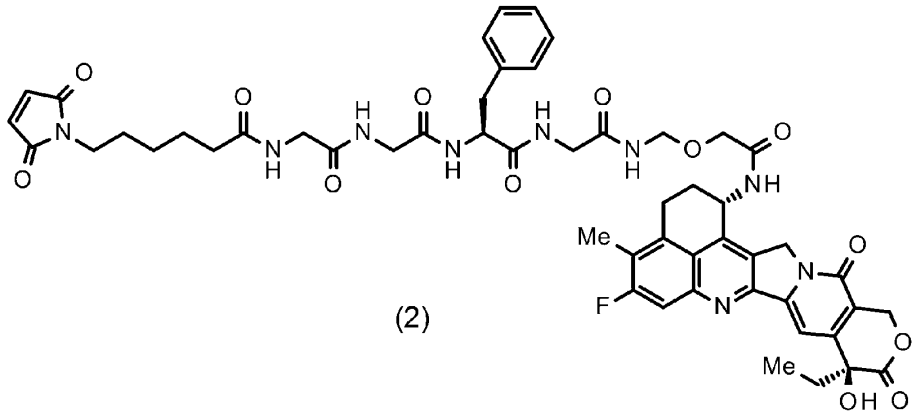
[0141] ３．抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用される薬物リンカー中間体

本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造に使用される薬物リンカー中間体は、

式（２）で表される化合物である。

[0142]

[化32]



(2)

[0143] 式（２）で表される化合物は、国際公開第２０１４／０５７６８７号、国際公開第２０１５／０９８０９９号、国際公開第２０１５／１１５０９１号、国際公開第２０１５／１５５９９８号、及び国際公開第２０１９／０４４９４７号等の記載を参考に製造することができる。

[0144] ４．抗体と薬物リンカー中間体のコンジュゲーション

本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造における、抗体と薬物リンカー中間体のコンジュゲーションは、

（ｉ）抗体を、還元剤で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、

（ｉｉｉ）チオール基を有する試薬を添加し、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させる工程、

を含む。

[0145] （ｉ）の工程で使用される還元剤は、抗体の鎖間ジスルフィドを還元できるものであれば特に限定されないが、例えば、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン若しくはその塩、ジチオトレイトール、又は２－メルカプトエタノールを用いることができ、好適には、トリス（２－カルボキシエチル

）ホスフィン若しくはその塩を用いることができ、より好適には、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩を用いることができる。

[0146] （ｉ）の工程で使用される還元剤の抗体１分子あたりの当量（以下、本発明において「当量」とは、モル当量を意味する。）は、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数、及び抗体の種類に応じて、適宜選択することができる。

[0147] 例えば、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（好適には、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、還元剤は、好適には、抗体１分子に対して４．１～５．１当量、より好適には、４．４～４．８当量、更により好適には、約４．６当量用いることができる。ここで、「約４．６当量」とは、好適には、４．５～４．７当量であり、より好適には４．６当量である。

[0148] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ３抗体（好適には、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、還元剤は、好適には、抗体１分子に対して５．５～６．５当量、より好適には、５．８～６．２当量、更により好適には、約６当量用いることができる。ここで、「約６当量」とは、好適には、５．９～６．１当量であり、より好適には６．０当量である。

[0149] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体（好適には、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配

列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、還元剤は、好適には、抗体１分子に対して４．３～５．３当量、より好適には、４．６～５当量、更により好適には、約４．８当量用いることができる。ここで、「約４．８当量」とは、好適には、４．７～４．９当量であり、より好適には４．８当量である。

[0150] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＣＤＨ６抗体（好適には、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、還元剤は、好適には、抗体１分子に対して４．３～５．３当量、より好適には、４．６～５当量、更により好適には、約４．８当量用いることができる。ここで、「約４．８当量」とは、好適には、４．７～４．９当量であり、より好適には４．８当量である。

[0151] （ｉ）の工程は、好適には、緩衝液中で行うことができる。

[0152] （ｉ）の工程で使用される緩衝液のｐＨは、好適には６～８であり、より好適には６．５～７．５であり、更により好適には６．９～７．４であり、更により好適には、７．０～７．３である。

[0153] （ｉ）の工程で使用される緩衝液は、抗体の鎖間ジスルフィドの還元の際に使用され得るものであれば特に制限されないが、例えば、酢酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液、リン酸緩衝液、Ｐｉｐｅｒａｚｉｎｅ－１，４－ｂｉｓ（２－ｅｔｈａｎｅｓｕｌｆｏｎｉｃ ａｃｉｄ）（以下、「ＰＩＰＥＳ」とも言う）緩衝液、４－（２－Ｈｙｄｒｏｘｙｅｔｈｙｌ）－１－ｐｉｐｅｒａｚｉｎｅ ｅｔｈａｎｅｓｕｌｆｏｎｉｃ ａｃｉｄ（以下、「ＨＥＰＥＳ」とも言う）緩衝液を用いることができる。

[0154] 例えば、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（好適には、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、好適には、ｐＨ６～８に調整された酢酸緩衝液を用いることができ、より好適には、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された酢酸緩衝液を用いることができ、更により好適には、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６．８～７．８に調整された酢酸緩衝液を用いることができ、更により好適には、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨが約７．３に調整された酢酸緩衝液を用いることができる。ここで、「約７．３」とは、好適には、７．１～７．５の範囲であり、より好適には、７．２～７．４の範囲であり、更により好適には、７．３である。

[0155] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ３抗体（好適には、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、好適には、ｐＨ６～８に調整された酢酸緩衝液を用いることができ、より好適には、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された酢酸緩衝液を用いることができ、更により好適には、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６．５～７．５に調整された酢酸緩衝液を用いることができ、更により好適には、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨが約７に調整された酢酸緩衝液を用いることができる。ここで、「約７」とは、好適には、６．８～７．２の範囲であり、より好適には、６．９～７．１の範囲であり、更により好適には７．０である。

[0156] かかる緩衝液を用いることにより、凝集体の生成を最小化することができ

る。なお、（ｉ）の工程で使用される緩衝液は、抗体製造由来の緩衝液を含有していてもよい。

[0157] （ｉ）の工程は、好適には、キレート剤の存在下で行われる。キレート剤は、抗体の鎖間ジスルフィドの還元の際に使用され得るものであれば特に制限されないが、例えば、エチレンジアミン四酢酸（以下、「ＥＤＴＡ」とも言う）、ジエチレントリアミン五酢酸、又は、グリコールエーテルジアミン四酢酸を用いることができ、好適には、エチレンジアミン四酢酸を用いることができる。

[0158] キレート剤は、好適には、抗体１分子に対して１～２０当量用いることができ、より好適には、抗体１分子に対して３～８当量用いることができ、更により好適には、抗体１分子に対して４～６当量用いることができ、更により好適には、抗体１分子に対して５当量用いることができる。

[0159] （ｉ）の工程で使用される緩衝液は、界面活性剤を含有していてもよい。本発明において「界面活性剤」とは、親水性基と疎水性基を有し、医薬品製剤の構成成分の一つとして使用され得る物質を示す。このような界面活性剤としては、例えば、ポリソルベート（ポリソルベート８０（Ｔｗｅｅｎ８０）、ポリソルベート２０（Ｔｗｅｅｎ２０）、及びポリソルベート６０（Ｔｗｅｅｎ６０）を含む）、ポリオキシエチレン（１６０）ポリオキシプロピレン（３０）グリコール、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油６０、ポリオキシエチレンヒマシ油、又はラウリル硫酸ナトリウムを挙げることができ、より好適には、ポリソルベート２０、又はポリソルベート８０を挙げることができる。

[0160] （ｉ）の工程で使用される緩衝液が界面活性剤を含有するか否か、及び、界面活性剤の種類は、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数、及び抗体の種類に応じて、適宜選択することができる。

[0161] 例えば、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（好適

には、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、（ｉ）の工程で使用される緩衝液は、好適には界面活性剤を含有しない。

[0162] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ３抗体（好適には、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、（ｉ）の工程で使用される緩衝液は、ポリソルベート２０を含有し、好適に用いることができる。

[0163] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体（好適には、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、（ｉ）の工程で使用される緩衝液は、ポリソルベート８０を含有し、好適に用いることができる。

[0164] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＣＤＨ６抗体（好適には、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、（ｉ）の工程で使用される緩衝液は、ポリソルベート８０を含有し、好適に用いることができ

る。

[0165] （ｉ）の工程は、好適には、２５～５０℃の内温下で行うことができる。

[0166] 製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（好適には、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、（ｉ）の工程は、好適には、３０～４０℃の内温下で行うことができ、より好適には、約３５℃の内温下で行うことができる。ここで、「約３５℃」とは、好適には、３３℃～３７℃であり、より好適には、３４℃～３６℃であり、更により好適には３５℃である。

[0167] 製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ３抗体（好適には、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、（ｉ）の工程は、好適には、３０～４０℃の内温下で行うことができ、より好適には、約３５℃の内温下で行うことができる。ここで、「約３５℃」とは、好適には、３３℃～３７℃であり、より好適には、３４℃～３６℃であり、更により好適には３５℃である。

[0168] 製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体（好適には、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、（ｉ）の工程は、好適には、２５～３５℃の内温下で行うことができ、より好適には、約３０℃の

内温下で行うことができる。ここで、「約３０℃」とは、好適には、２８℃～３２℃であり、より好適には、２９℃～３１℃であり、更により好適には３０℃である。

[0169] 製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＣＤＨ６抗体（好適には、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、（ｉ）の工程は、好適には、２５～３５℃の内温下で行うことができ、より好適には、約３０℃の内温下で行うことができる。ここで、「約３０℃」とは、好適には、２８℃～３２℃であり、より好適には、２９℃～３１℃であり、更により好適には３０℃である。

[0170] （ｉ）の工程の反応時間は、好適には、１～４時間である。

[0171] （ｉｉ）の工程で使用される式（２）で表される化合物の抗体１分子あたりの当量は、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数、及び抗体の種類に応じて、適宜選択することができる。

[0172] 例えば、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（好適には、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、式（２）で表される化合物は、好適には、抗体１分子に対して８～１０当量、より好適には、８．２～９．２当量、更により好適には、約８．７当量用いることができる。ここで、「約８．７当量」とは、好適には、８．５～８．９当量であり、より好適には、８．６～８．８当量であり、更により好適には８．７当量である。

[0173] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ３抗体（好適には、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、式（２）で表される化合物は、好適には、抗体１分子に対して８～１０当量、より好適には、９～１０当量、更により好適には、約９．５当量用いることができる。ここで、「約９．５当量」とは、好適には、９．３～９．７当量であり、より好適には、９．４～９．６当量であり、更により好適には９．５当量である。

[0174] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体（好適には、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、式（２）で表される化合物は、好適には、抗体１分子に対して８～１０当量、より好適には、８．３～９．３当量、更により好適には、約８．８当量用いることができる。ここで、「約８．８当量」とは、好適には、８．６～９．０当量であり、より好適には、８．７～８．９当量であり、更により好適には８．８当量である。

[0175] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＣＤＨ６抗体（好適には、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、式（２）で表される化合物は、好適には、抗体１分子に対して８～１０当量、より好適には、８．６～９．６当量、更により好適には、約９．１当量用いることができる

。ここで、「約９．１当量」とは、好適には、８．９～９．３当量であり、より好適には、９．０～９．２当量であり、更により好適には９．１当量である。

[0176] 式（２）で表される化合物は、好適には、溶媒に溶解した状態で（ｉ）の工程で得られた反応液に添加することができる。かかる溶媒としては、抗体との結合反応の際に使用され得るものであれば特に制限されないが、好適には、ジメチルスルホキシド、ジメチルスルホキシド水溶液、アセトン、又は、アセトン水溶液を用いることができ、より好適には、ジメチルスルホキシド水溶液を用いることができ、更により好適には、８０％ジメチルスルホキシド水溶液を用いることができる。更に、これらの溶媒は、好適には酢酸を含有した状態で用いることができる。該酢酸は、好適には、抗体１分子に対して９～１０当量用いることができる。

[0177] （ｉｉ）の工程は、好適には、５～２５℃の内温下で行うことができ、より好適には、１０～２０℃の内温下で行うことができ、更により好適には、約１５℃の内温下で行うことができる。ここで、「約１５℃」とは、好適には、１３℃～１７℃であり、より好適には、１４℃～１６℃であり、更により好適には１５℃である。

[0178] （ｉｉ）の工程の反応時間は、好適には０．５～２時間である。

[0179] （ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬は、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させるために用いることができる。言い換えれば、（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬は、余剰の式（２）で表される化合物をクエンチさせるために用いることができる。

[0180] （ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬としては、式（２）で表される化合物のマレイミジル基と反応できるものであれば特に制限されないが、例えば、Ｎ－アセチルシステイン、及びシステインを用いることができ、好適には、Ｎ－アセチルシステインを用いることができる。

[0181] （ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬は、好適には、抗

体１分子に対して１０～５０当量用いることができ、より好適には、１０～３０当量用いることができる。

[0182] （ｉｉｉ）の工程は、好適には、５～２５℃の内温下で行うことができ、より好適には、１０～２０℃の内温下で行うことができ、更により好適には、約１５℃の内温下で行うことができる。ここで、「約１５℃」とは、好適には、１３℃～１７℃であり、より好適には、１４℃～１６℃であり、更により好適には１５℃である。

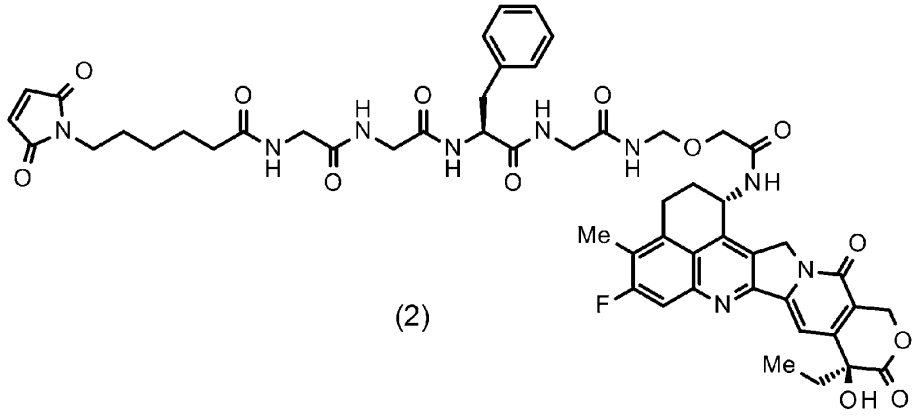
[0183] （ｉｉｉ）の工程の反応時間は、好適には０．５～２時間である。

[0184] ５．抗体－薬物コンジュゲートの精製

本発明の抗体－薬物コンジュゲートの製造方法は、（ｉ）抗体を、還元剤で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[0185] [化33]



(2)

[0186] で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、次いで、

（ｉｉｉ）チオール基を有する試薬を添加する工程、によって得られた、該抗体－薬物コンジュゲートの未精製物又は粗精製物を含む溶液を、

（ｉｖ）強酸と強塩基からなる塩を含有する緩衝液を用いた限外濾過により

、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉ）の工程で使用される還元剤が付加した化合物、及び、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が付加した化合物を除去する工程
により精製することを特徴とする。

[0187] 本発明において「抗体－薬物コンジュゲートの未精製物又は粗精製物」とは、（ｉ）～（ｉｉｉ）の工程を行った直後の未精製の状態の抗体－薬物コンジュゲート、又は、クロマトグラフィー以外の操作（例えば、限外濾過以外の簡易な濾過）で粗精製した状態の抗体－薬物コンジュゲートを意味する。限外濾過以外の簡易な濾過としては、例えば精密濾過（メンブランフィルター濾過）を挙げることができる。

[0188] また、上記「抗体－薬物コンジュゲートの未精製物又は粗精製物」は、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液が適切なｐＨとなるよう、ｐＨ調整されたものであっても良い。かかるｐＨ調整は、好適には酢酸水溶液を用いて行うことができ、より好適には１０％酢酸水溶液を用いて行うことができる。

[0189] 本発明において「限外濾過」とは、約０．００１μｍから約０．０５μｍの範囲の細孔径をもつ膜（限外濾過膜）を通して濾過することにより、大きな溶質分子と小さい溶質分子とを、又は溶質分子と溶媒分子とを分別する精製方法を意味する。限外濾過膜は一般に１ｋＤａ～１０００ｋＤａの範囲の分子量のカットオフ（ＭＷＣＯ）を有する。ＭＷＣＯは、一般にその膜により９０％保持される球状の溶質の分子量として定義される。本発明の限外濾過は、好適にはＭＷＣＯが１ｋＤａ～１００ｋＤａの限外濾過膜を用いて行うことができ、より好適には３０ｋＤａの限外濾過膜を用いて行うことができる。また、限外濾過膜の材質としては、例えば、再生セルロース、酢酸セルロース、芳香族ポリアミド、ポリビニルアルコール、ポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリフッ化ビニリデン、ポリエチレン、ポリアクリロニトリル、ナイロン、及びセラミックを挙げることができる。本発明の限外濾過は、好適には、再生セルロースを材質とする限外濾過膜を用いて行うこと

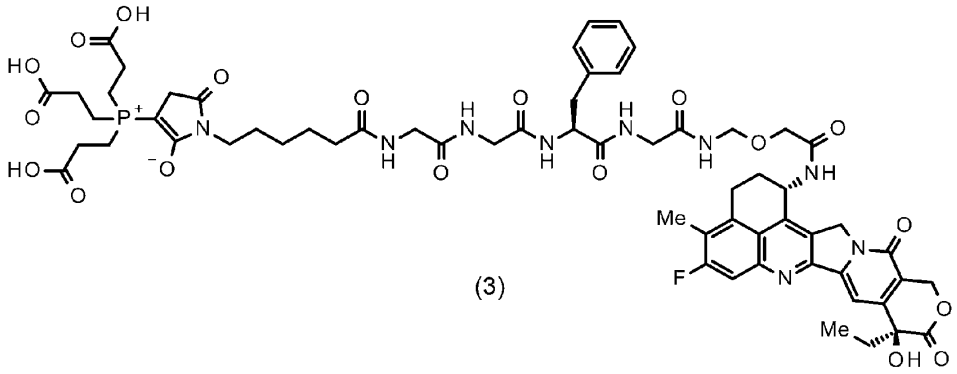
ができるが、これに限定されない。本発明で用いる限外濾過膜の例としては、Ｐｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）ＸＬ　Ｃａｓｓｅｔｔｅ　Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製）、Ｐｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）２　Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製）、及びＰｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）３　Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製）を挙げることができる。なお、限外濾過は、狭義では圧力操作又は遠心操作によって強制的に濾過する方法を意味する場合もあり、一方で、受動拡散によって濾過する方法は一般的に「透析濾過」と呼ばれる場合もあるが、限外濾過膜を使用する方法であれば、いずれの場合も本発明における「限外濾過」に含まれる。

[0190] 本発明において、「凝集体」とは、広範囲のｐＨ及び電気伝導率の条件下で安定し得る、蛋白質分子の会合物とその他の任意の成分からなる微粒子のことを意味する。抗体－薬物コンジュゲート製剤における凝集体の形成は、該製剤の投与を受ける患者に免疫原性や静脈障害を与える要因になリ得る等、医療上、望ましくいない影響を及ぼし得る。従って、抗体－薬物コンジュゲートの製剤化にあたっては、凝集体の形成を抑制することが求められている。

[0191] （ｉ）の工程で使用される還元剤がトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩である場合、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉ）の工程で使用される還元剤が付加した化合物は、式（３）

[0192]

[化34]

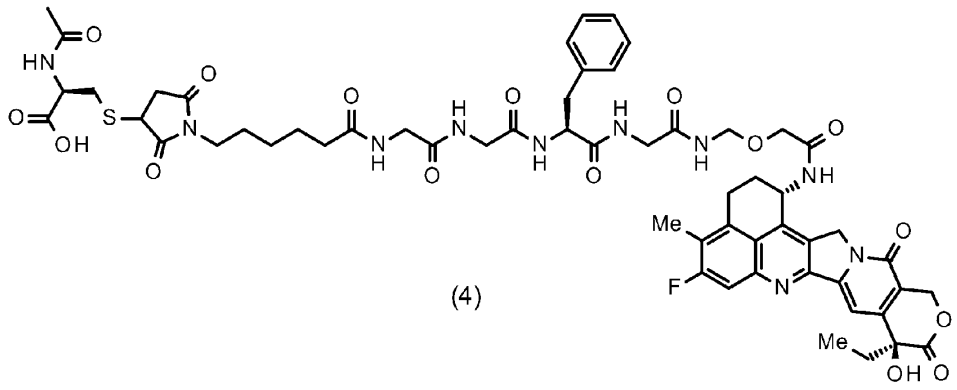


(3)

[0193] で表される化合物である。

[0194] （ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬がＮ－アセチルシステインである場合、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が付加した化合物は、式（４）

[0195] [化35]



(4)

[0196] で表される化合物である。

[0197] 式（３）で表される化合物、及び、式（４）で表される化合物は、（ｉｖ

）の工程を行うことにより、（ｉｖ）の工程を行う前と比較し、好適には、９７％除去することができ、より好適には、９８％除去することができ、更により好適には９９％除去することができ、更により好適には１００％除去することができる。

[0198] （ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨは、約５である。ここで、「約５」とは、好適には、４．７～５．３の範囲であり、より好適には、４．８～５．２の範囲であり、更により好適には、４．９～５．１の範囲であり、更により好適には５．０である。かかるｐＨで限外濾過を行なうことにより、凝集体の生成を抑制することができる。本工程後の凝集体量は、好適には４％以下であり、より好適には２％以下である。なお、凝集体は、原料の抗体自体にも一定程度含まれており、本工程における凝集体量は、それらも含めた合計量として検出される。

[0199] （ｉｖ）の工程で使用される緩衝液は、例えば、強酸と強塩基からなる塩を含有するヒスチジン緩衝液、強酸と強塩基からなる塩を含有する酢酸緩衝液、又は強酸と強塩基からなる塩を含有するリン酸緩衝液を挙げることができ、好適には、強酸と強塩基からなる塩を含有するヒスチジン緩衝液を挙げることができる。

[0200] 強酸と強塩基からなる塩の濃度は、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し、好適には、０．２～１重量％であり、より好適には、０．３～０．９重量％であり、更により好適には、０．３～０．８重量％であり、更により好適には、０．４～０．７重量％であり、更により好適には、約０．５重量％である。ここで、「約０．５重量％」とは、好適には、０．４～０．６重量％であり、更により好適には、０．５重量％である。

[0201] （ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に含まれる強酸と強塩基からなる塩は、本発明の効果を示す限りにおいて特に制限されないが、例えば、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫酸ナトリウム、及び硫酸カリウムからなる群より選択される少なくともいずれか一つの塩、又は二種類以上の組み合わせの塩であり、好適には、塩化ナトリウムである。

[0202] 本発明の製造方法は、好適には、（ｉｖ）の工程に次いで、（ｖ）緩衝液を用いた限外濾過により、強酸と強塩基からなる塩を除去する工程、を含む。

[0203] （ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨは、本発明の効果を示す限りにおいて特に制限されないが、例えば、４～６の範囲であり、好適には、約５である。ここで、「約５」とは、好適には、４．７～５．３の範囲であり、更により好適には、４．８～５．２の範囲であり、更により好適には、４．９～５．１の範囲であり、更により好適には５．０である。

[0204] （ｖ）の工程で使用される緩衝液としては、本発明の効果を示す限りにおいて特に制限されないが、好適には、ヒスチジン緩衝液を用いることができる。このヒスチジン緩衝液は、強酸と強塩基からなる塩を実質的に含有しない。

[0205] 以上の方法によれば、限外濾過によって、式（２）で表される化合物由来の副生成物を除去することができ、さらに、凝集体の生成も最小化できるため、クロマトグラフィー（例えば、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つ）による精製が不要な工業的に優れた精製方法を提供することができる。

[0206] ６．抗体－薬物コンジュゲートの平均薬物結合数の算出

製造した抗体－薬物コンジュゲートの抗体一分子あたりの平均薬物結合数の算出は、例えば、２８０ｎｍ及び３７０ｎｍの二波長における抗体－薬物コンジュゲートとそのコンジュゲーション前駆体のＵＶ吸光度を測定することにより算出する方法（ＵＶ法）や、抗体－薬物コンジュゲートを還元剤で処理し得られた各フラグメントをＨＰＬＣ測定により定量し算出する方法（ＨＰＬＣ法）により行うことができる。

[0207] 抗体－薬物コンジュゲートの抗体一分子あたりの平均薬物結合数の算出は、国際公開第２０１４／０５７６８７号、国際公開第２０１５／０９８０９９号、国際公開第２０１５／１１５０９１号、国際公開第２０１５／１５５

９９８号、国際公開第２０１８／１３５５０１号、及び国際公開第２０１８／２１２１３６号等の記載を参考に実施することができる。

[0208] ＨＰＬＣ法は、例えば、以下の方法により行うことができる。

（１）ＨＰＬＣ分析用サンプルの調製（抗体－薬物コンジュゲートの還元）

抗体－薬物コンジュゲート溶液（約１ｍｇ／ｍＬ、６０μＬ）をジチオトレイトール（ＤＴＴ）水溶液（１００ｍＭ、１５μＬ）と混合する。混合物を３７℃で３０分インキュベートすることで、抗体－薬物コンジュゲートの鎖間のジスルフィドを切断したサンプルを、ＨＰＬＣ分析に用いる。

（２）ＨＰＬＣ分析

ＨＰＬＣ分析は、各抗体の性質に応じた測定条件にて行うことができる。

[0209] 例えば、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）、又は抗ＨＥＲ３抗体（配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、ＨＰＬＣ分析を、下記の測定条件にて行うことができる。

[0210] ＨＰＬＣシステム：Ａｇｉｌｅｎｔ １２９０ ＨＰＬＣシステム（Ａｇｉｌｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）

検出器：紫外吸光度計（測定波長：２８０ｎｍ）

カラム：ＰＬＲＰ－Ｓ（２．１×５０ｍｍ、８μｍ、１０００Å；Ａｇｉｌｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｐ／Ｎ ＰＬ１９１２－１８０２）

カラム温度：８０℃

移動相Ａ：０．０４％トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）水溶液

移動相Ｂ：０．０４％ＴＦＡを含むアセトニトリル溶液

グラジエントプログラム：２９％－３６％（０分－１２．５分）、３６％－４２％（１２．５－１５分）、４２％－２９％（１５分－１５．１分）、２９％－２９％（１５．１分－２５分）

サンプル注入量：１５μＬ

また、抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体（配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）、又は抗ＣＤＨ６抗体（配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、ＨＰＬＣ分析を、下記の測定条件にて行うことができる。

[0211] ＨＰＬＣシステム：Ａｇｉｌｅｎｔ １２９０ ＨＰＬＣシステム（Ａｇｉｌｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）

検出器：紫外吸光度計（測定波長：２８０ｎｍ）

カラム：ＡＣＱＵＩＴＹ ＵＰＬＣ ＢＥＨ Ｐｈｅｎｙｌ（２．１×５０ｍｍ、１．７μｍ、１３０Å；Ｗａｔｅｒｓ、Ｐ／Ｎ １８６００２８８４）

カラム温度：８０℃

移動相Ａ：０．１０％トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）、１５％２－プロパノールを含む水溶液

移動相Ｂ：０．０７５％ＴＦＡ、１５％２－プロパノールを含むアセトニトリル溶液

グラジエントプログラム：１４％－３６％（０分－１５分）、３６％－８０％（１５分－１７分）、８０％－１４％（１７分―１７．０１分）、１４％（１７．０１分―２５分）

サンプル注入量：１０μＬ

（３）データ解析

薬物の結合していない抗体の軽鎖（$Ｌ_0$）および重鎖（$Ｈ_0$）に対して、薬物の結合した軽鎖（薬物が一つ結合した軽鎖：$Ｌ_1$）および重鎖（薬物が一つ結合した重鎖：$Ｈ_1$、薬物が二つ結合した重鎖：$Ｈ_2$、薬物が三つ結合した重鎖：$Ｈ_3$）は、結合した薬物の数に比例して疎水性が増し保持時間が大きくなることから、$Ｌ_0$、$Ｌ_1$、$Ｈ_0$、$Ｈ_1$、$Ｈ_2$、$Ｈ_3$の順に溶出される。$Ｌ_0$および

H_0との保持時間比較により検出ピークをL_0、L_1、H_0、H_1、H_2、H_3のいずれかに割り当てることができる。

[0212] 薬物リンカーにＵＶ吸収があるため、薬物リンカーの結合数に応じて、軽鎖、重鎖および薬物リンカーのモル吸光係数を用いて下式に従ってピーク面積値の補正を行う。

[0213] [数1]

$$\text{軽鎖ピーク面積補正値}（L_i）= \text{ピーク面積} \times \frac{\text{軽鎖のモル吸光係数}}{\text{軽鎖のモル吸光係数} + \text{薬物結合数} \times \text{薬物リンカーのモル吸光係数}}$$

[0214] [数2]

$$\text{重鎖ピーク面積補正値}（H_i）= \text{ピーク面積} \times \frac{\text{重鎖のモル吸光係数}}{\text{重鎖のモル吸光係数} + \text{薬物結合数} \times \text{薬物リンカーのモル吸光係数}}$$

[0215] ここで、各抗体における軽鎖および重鎖のモル吸光係数（２８０ｎｍ）は、既知の計算方法（Protein Science, 1995, vol.4, 2411-2423）によって、各抗体の軽鎖および重鎖のアミノ酸配列から推定される値を用いることができる。

[0216] 例えば、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、軽鎖のモル吸光係数として２６１５０を、重鎖のモル吸光係数として８１２９０を推定値として用いることができる。

[0217] また、抗体が、抗ＨＥＲ３抗体（配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体

）である場合、軽鎖のモル吸光係数として３４６９０を、重鎖のモル吸光係数として９５０００を推定値として用いることができる。

[0218] また、抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体（配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、軽鎖のモル吸光係数として２６２１０を、重鎖のモル吸光係数として６８９９０を推定値として用いることができる。

[0219] また、抗体が、抗ＣＤＨ６抗体（配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、軽鎖のモル吸光係数として３１７１０を、重鎖のモル吸光係数として７９９９０を推定値として用いることができる。

[0220] 薬物リンカーのモル吸光係数（２８０ｎｍ）は、各薬物リンカー中間体をメルカプトエタノールまたはＮ－アセチルシステインで反応させ、マレイミジル基をサクシニイミドチオエーテルに変換した化合物の実測のモル吸光係数（２８０ｎｍ）を用いることができる。

[0221] ピーク面積補正値合計に対する各鎖ピーク面積比（％）を下式に従って計算する。

[0222] [数3]

$$\text{軽鎖ピーク面積比} = \frac{A_{Li}}{A_{L0} + A_{L1}} \times 100$$

$$\text{重鎖ピーク面積比} = \frac{A_{Hi}}{A_{H0} + A_{H1} + A_{H2} + A_{H3}} \times 100$$

A_{Li}, A_{Hi}：L_i, H_i各々のピーク面積補正値

[0223] 抗体－薬物コンジュゲートにおける平均薬物結合数を、下式に従って計算する。

[0224] 平均薬物結合数＝（L_0ピーク面積比×０＋L_1ピーク面積比×１＋H_0ピー

ク面積比×０＋H_1ピーク面積比×１＋H_2ピーク面積比×２＋H_3ピーク面積比×３）／１００×２

本発明において、「抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲート」とは、本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートにおける抗体が抗ＨＥＲ２抗体である抗体－薬物コンジュゲートを示す。

[0225] 抗ＨＥＲ２抗体は、好適には、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である。

[0226] 抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数は、好適には７から８であり、更により好適には７．５から８であり、更により好適には約８である。

[0227] 本発明において、「抗ＨＥＲ３抗体－薬物コンジュゲート」とは、本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートにおける抗体が抗ＨＥＲ３抗体である抗体－薬物コンジュゲートを示す。

[0228] 抗ＨＥＲ３抗体は、好適には、配列番号３においてアミノ酸番号２６乃至３５に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ１、配列番号３においてアミノ酸番号５０乃至６５に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ２、及び配列番号３においてアミノ酸番号９８乃至１０６に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ３を含む重鎖、並びに、配列番号４においてアミノ酸番号２４乃至３９に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ１、配列番号４においてアミノ酸番号５６乃至６２に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ２、及び配列番号４においてアミノ酸番号９５乃至１０３に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ３を含む軽鎖、を含む抗体であり、

より好適には、配列番号３においてアミノ酸番号１乃至１１７に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号４においてアミノ酸番号１乃至１１３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽

鎖、を含む抗体であり、

更により好適には、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体である。

[0229] 抗ＨＥＲ３抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数は、好適には７から８であり、更により好適には７．５から８であり、更により好適には約８である。

[0230] 本発明において、「抗ＧＰＲ２０抗体－薬物コンジュゲート」とは、本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートにおける抗体が抗ＧＰＲ２０抗体である抗体－薬物コンジュゲートを示す。

[0231] 抗ＧＰＲ２０抗体は、好適には、配列番号５においてアミノ酸番号４５乃至５４に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ１、配列番号５においてアミノ酸番号６９乃至７８に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ２、及び配列番号５においてアミノ酸番号１１８乃至１３１に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ３を含む重鎖、並びに、配列番号６においてアミノ酸番号４４乃至５４に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ１、配列番号６においてアミノ酸番号７０乃至７６に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ２、及び配列番号６においてアミノ酸番号１０９乃至１１７に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ３を含む軽鎖、を含む抗体であり、

より好適には、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至１４２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至１２９に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体であり、

更により好適には、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体である。

[0232] 抗ＧＰＲ２０抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの

平均結合数は、好適には２から８であり、より好適には３から８であり、更により好適には７から８であり、更により好適には７．５から８であり、更により好適には約８である。

[0233] 本発明において、「抗ＣＤＨ６抗体－薬物コンジュゲート」とは、本発明によって製造される抗体－薬物コンジュゲートにおける抗体が抗ＣＤＨ６抗体である抗体－薬物コンジュゲートを示す。

[0234] 抗ＣＤＨ６抗体は、好適には、配列番号７においてアミノ酸番号４５乃至５４に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ１、配列番号７においてアミノ酸番号６９乃至７８に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ２、及び配列番号７においてアミノ酸番号１１８乃至１３０に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ３を含む重鎖、並びに、配列番号８においてアミノ酸番号４４乃至５４に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ１、配列番号８においてアミノ酸番号７０乃至７６に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ２、及び配列番号８においてアミノ酸番号１０９乃至１１６に記載のアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ３を含む軽鎖、を含む抗体であり、

より好適には、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至１４１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域を含む重鎖、及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至１２８に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を含む軽鎖、を含む抗体であり、

更により好適には、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体である。

[0235] 抗ＣＤＨ６抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数は、好適には２から８であり、より好適には３から８であり、更により好適には７から８であり、更により好適には７．５から８であり、更により好適には約８である。

[0236] ７．医薬組成物の製造

本発明にかかる医薬組成物は、本発明にかかる抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物である。

[0237] かかる医薬組成物は、上述の方法により製造（精製を含む）した、抗体－薬物コンジュゲートを、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲート含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲート含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲート含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲート含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことにより、製造することができる。

[0238] （ｖｉ）の工程で添加される緩衝液は、好適には、（ｖ）の工程で用いられる緩衝液と同一である。従って、（ｖｉ）の工程で用いられる緩衝液としては、好適には、ヒスチジン緩衝液を用いることができる。

[0239] （ｖｉｉｉ）の工程で行われるｐＨの調整は、（ｖｉ）の工程で用いられる緩衝液がヒスチジン緩衝液である場合、好適には、ヒスチジン水溶液を用いて行うことができる。

[0240] 本発明において「賦形剤」とは、医薬品の成形、取扱い、及び服薬における利便性の向上等のために、一定の大きさや濃度にする目的で添加される物質を示す。このような賦形剤としては、本発明の効果を示す限りにおいて特に制限されないが、例えば、スクロース、トレハロース、ソルビトールを挙げることができる。

[0241] （ｉｘ）の工程で添加される賦形剤としては、好適には、スクロースを用いることができる。

[0242] さらに、本発明にかかる医薬組成物は、好適には、さらに界面活性剤を含む。すなわち、本発明にかかる医薬組成物は、より好適には、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物である。

[0243] かかる医薬組成物は、上述の（ｉｘ）の工程の後、さらに、（ｘ）界面活性剤を添加する工程、を含む工程を施すことにより、製造することができる。

[0244] （ｘ）の工程で添加される界面活性剤としては、好適には、ポリソルベート８０、又はポリソルベート２０を用いることができる。

[0245] 医薬組成物における、緩衝液、賦形剤、界面活性剤、及び、抗体－薬物コンジュゲートの濃度、並びに、医薬組成物のｐＨは、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数、及び抗体の種類に応じて、適宜選択することができる。

[0246] 例えば、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（好適には、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、医薬組成物における、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤としては、好適には、ヒスチジン緩衝液（好適には２５ｍＭヒスチジン緩衝液）、スクロース（好適には９％スクロース）、及びポリソルベート８０（好適には０．０３％ポリソルベート８０）を用いることができ、医薬組成物における抗体－薬物コンジュゲートの濃度は、好適には、２０ｍｇ／ｍＬであり、医薬組成物のｐＨは、好適には、５．５である。

[0247] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ３抗体（好適には、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、医薬組成物における、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤としては、好適には、ヒスチジン緩衝液（好適には２５ｍＭヒスチジン緩衝液）、スクロース（好適には９％スクロ

ース）、及びポリソルベート２０（好適には０．０３％ポリソルベート２０）を用いることができ、医薬組成物における抗体－薬物コンジュゲートの濃度は、好適には、２０ｍｇ／ｍＬであり、医薬組成物のｐＨは、好適には、５．４である。

[0248] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体（好適には、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、医薬組成物における、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤としては、好適には、ヒスチジン緩衝液（好適には１０ｍＭヒスチジン緩衝液）、スクロース（好適には９％スクロース）、及びポリソルベート８０（好適には０．０３％ポリソルベート８０）を用いることができ、医薬組成物における抗体－薬物コンジュゲートの濃度は、好適には、２０ｍｇ／ｍＬであり、医薬組成物のｐＨは、好適には、５．４である。

[0249] また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＣＤＨ６抗体（好適には、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、医薬組成物における、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤としては、好適には、ヒスチジン緩衝液（好適には１０ｍＭヒスチジン緩衝液）、スクロース（好適には９％スクロース）、及びポリソルベート８０（好適には０．０３％ポリソルベート８０）を用いることができ、医薬組成物における抗体－薬物コンジュゲートの濃度は、好適には、２０ｍｇ／ｍＬであり、医薬組成物のｐＨは、好適には、５．４である。

[0250] ８．医薬組成物の使用

本発明の医薬組成物は、患者に対しては全身療法として適用する他、がん組織に局所的に適用して治療効果を期待することができる。

[0251] 本発明の医薬組成物は、哺乳動物に対して好適に使用することができるが、より好適にはヒトに対して使用することができる。

[0252] 本発明の医薬組成物を投与するために使用され得る導入経路としては、例えば、静脈内、皮内、皮下、筋肉内、及び腹腔内の経路を挙げることができるが、好適には、静脈内である。

[0253] 本発明の医薬組成物が水性注射剤である場合、好適には、適切な希釈液で希釈した後、静脈内に点滴投与することができる。希釈液としては、ブドウ糖溶液や、生理食塩液、等を挙げることができ、好適には、ブドウ糖溶液を挙げることができ、より好適には５％ブドウ糖溶液を挙げることができる。

[0254] 本発明の医薬組成物が凍結乾燥注射剤である場合、好適には、注射用水により溶解した後、必要量を適切な希釈液で希釈した後、静脈内に点滴投与することができる。希釈液としては、ブドウ糖溶液や、生理食塩液、等を挙げることができ、好適には、ブドウ糖溶液を挙げることができ、より好適には５％ブドウ糖溶液を挙げることができる。

[0255] 本発明の医薬組成物は、本発明の抗体－薬物コンジュゲートの抗原に対する親和性、すなわち、抗原に対する解離定数（Ｋｄ値）の点において、親和性が高い（Ｋｄ値が低い）ほど、少量の投与量であっても薬効を発揮させることができる。したがって、本発明の医薬組成物の投与量は、抗原との親和性の状況に基づいて設定することもできる。本発明の医薬組成物をヒトに対して投与する際には、例えば、抗体－薬物コンジュゲートとして、約０．００１～１００ｍｇ／ｋｇ（ここで、「ｍｇ／ｋｇ」とは、ヒトの体重１ｋｇあたりの抗体－薬物コンジュゲートの投与量を意味する）を１回或は１～１８０日間に１回の間隔で複数回投与すればよいが、好適には、０．８ｍｇ／ｋｇ～８ｍｇ／ｋｇを３週に１回投与する方法を挙げることができる。

[0256] 抗体－薬物コンジュゲートの投与量及び投与間隔は、製造する抗体－薬物

コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数、及び抗体の種類に応じて、適宜選択することができる。例えば、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ２抗体（好適には、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）である場合、好適には、０．８ｍｇ／ｋｇ、１．６ｍｇ／ｋｇ、３．２ｍｇ／ｋｇ、５．４ｍｇ／ｋｇ、６．４ｍｇ／ｋｇ、７．４ｍｇ／ｋｇ、又は８ｍｇ／ｋｇの抗体－薬物コンジュゲートを３週に１回投与する方法を挙げることができ、より好適には、５．４ｍｇ／ｋｇ、６．４ｍｇ／ｋｇ、７．４ｍｇ／ｋｇ、又は８ｍｇ／ｋｇの抗体－薬物コンジュゲートを３週に１回投与する方法を挙げることができ、更により好適には、５．４ｍｇ／ｋｇ、又は６．４ｍｇ／ｋｇの抗体－薬物コンジュゲートを３週に１回投与する方法を挙げることができる。また、製造する抗体－薬物コンジュゲートの１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲であり、抗体が、抗ＨＥＲ３抗体（好適には、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体、又は、該抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している抗体）である場合、好適には、１．６ｍｇ／ｋｇ、３．２ｍｇ／ｋｇ、４．８ｍｇ／ｋｇ、５．６ｍｇ／ｋｇ、６．４ｍｇ／ｋｇ、８．０ｍｇ／ｋｇ、９．６ｍｇ／ｋｇ、又は１２．８ｍｇ／ｋｇの抗体－薬物コンジュゲートを３週に１回投与する方法を挙げることができ、より好適には、４．８ｍｇ／ｋｇ、５．６ｍｇ／ｋｇ、又は６．４ｍｇ／ｋｇの抗体－薬物コンジュゲートを３週に１回投与する方法を挙げることができる。

[0257] 本発明の医薬組成物は、がんの治療のために使用することができ、好適には、乳がん、胃がん（胃腺がんと呼ぶこともある）、大腸がん（結腸直腸が

んと呼ぶこともあり、結腸がん及び直腸がんを含む）、肺がん（小細胞肺がん及び非小細胞肺がんを含む）、食道がん、頭頚部がん（唾液腺がん及び咽頭がんを含む）、胃食道接合部腺がん、胆道がん（胆管がんを含む）、ページェット病、膵臓がん、卵巣がん、子宮がん肉腫、尿路上皮がん、前立腺がん、膀胱がん、消化管間質腫瘍、子宮頸がん、扁平上皮がん、腹膜がん、肝臓がん、肝細胞がん、子宮体がん、腎臓がん、外陰部がん、甲状腺がん、陰茎がん、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、多型神経膠芽腫、骨肉腫、及びメラノーマからなる群より選択される少なくとも一つのがんの治療のために使用することができる。

[0258] 本発明の医薬組成物は、がん治療の主要な治療法である薬物療法のための薬剤として選択して使用することができ、その結果として、がん細胞の成長を遅らせ、増殖を抑え、さらにはがん細胞を破壊することができる。これらの作用によって、がん患者において、がんによる症状からの解放や、ＱＯＬの改善を達成でき、がん患者の生命を保って治療効果が達成される。がん細胞の破壊には至らない場合であっても、がん細胞の増殖の抑制やコントロールによってがん患者においてより高いＱＯＬを達成しつつより長期の生存を達成させることができる。

[0259] このような薬物療法においての薬物単独での使用の他、本発明の医薬組成物は、アジュバント療法において他の療法と組み合わせて使用することもでき、外科手術や、放射線療法、ホルモン療法等と組み合わせることができる。さらにはネオアジュバント療法における薬物療法として使用することもできる。

[0260] 以上のような治療的使用の他、本発明の医薬組成物は、微細な転移がん細胞の増殖を押さえ、さらには破壊するといった予防効果も期待することができる。例えば、転移過程で体液中にあるがん細胞を抑制し破壊する効果や、いずれかの組織に着床した直後の微細ながん細胞に対する抑制、破壊等の効果が期待できる。したがって、特に外科的ながんの除去後においてのがん転移の抑制、予防効果が期待できる。

[0261] 本発明の医薬組成物は、他のがん治療剤と併用して投与することもでき、これによって抗腫瘍効果を増強させることができる。この様な目的で使用される他のがん治療剤は、本発明の医薬組成物と同時に、別々に、或は連続して個体に投与されてもよいし、それぞれの投与間隔を変えて投与されてもよい。この様ながん治療剤としては、抗腫瘍活性を有する薬剤であれば限定されることはないが、例えば、イリノテカン（Ｉｒｉｎｏｔｅｃａｎ、ＣＰＴ－１１）、シスプラチン（Ｃｉｓｐｌａｔｉｎ）、カルボプラチン（Ｃａｒｂｏｐｌａｔｉｎ）、オキサリプラチン（Ｏｘａｌｉｐｌａｔｉｎ）、フルオロウラシル（Ｆｌｕｏｒｏｕｒａｃｉｌ、５－ＦＵ）、ゲムシタビン（Ｇｅｍｃｉｔａｂｉｎｅ）、カペシタビン（Ｃａｐｅｃｉｔａｂｉｎｅ）、パクリタキセル（Ｐａｃｌｉｔａｘｅｌ）、ドセタキセル（Ｄｏｃｅｔａｘｅｌ）、ドキソルビシン（Ｄｏｘｏｒｕｂｉｃｉｎ）、エピルビシン（Ｅｐｉｒｕｂｉｃｉｎ）、シクロフォスファミド（Ｃｙｃｌｏｐｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）、マイトマイシンＣ（Ｍｉｔｏｍｙｃｉｎ Ｃ）、テガフール（Ｔｅｇａｆｕｒ）・ギメラシル（Ｇｉｍｅｒａｃｉｌ）・オテラシル（Ｏｔｅｒａｃｉｌ）配合剤、セツキシマブ（Ｃｅｔｕｘｉｍａｂ）、パニツムマブ（Ｐａｎｉｔｕｍｕｍａｂ）、ベバシズマブ（Ｂｅｖａｃｉｚｕｍａｂ）、ラムシルマブ（Ｒａｍｕｃｉｒｕｍａｂ）、レゴラフェニブ（Ｒｅｇｏｒａｆｅｎｉｂ）、トリフルリジン（Ｔｒｉｆｌｕｒｉｄｉｎｅ）・チピラシル（Ｔｉｐｉｒａｃｉｌ）配合剤、ゲフィチニブ（Ｇｅｆｉｔｉｎｉｂ）、エルロチニブ（Ｅｒｌｏｔｉｎｉｂ）、アファチニブ（Ａｆａｔｉｎｉｂ）、メトトレキサート（Ｍｅｔｈｏｔｒｅｘａｔｅ）、ペメトレキセド（Ｐｅｍｅｔｒｅｘｅｄ）、トラスツズマブエムタンシン（Ｔｒａｓｔｕｚｕｍａｂ ｅｍｔａｎｓｉｎ）、トラスツズマブ（Ｔｒａｓｔｕｚｕｍａｂ）、ペルツズマブ（Ｐｅｒｔｕｚｕｍａｂ）、タモキシフェン（Ｔａｍｏｘｉｆｅｎ）、トレミフェン（Ｔｏｒｅｍｉｆｅｎｅ）、フルベストラント（Ｆｕｌｖｅｓｔｒａｎｔ）、リュープロレリン（Ｌｅｕｐｒｏｒｅｌｉｎ）、ゴセレリン（Ｇｏｓｅｒｅｌｉｎ）、レトロゾール（Ｌｅｔｒｏｚｏｌｅ）、アナス

トロゾール（Ａｎａｓｔｒｏｚｏｌｅ）、及びプロゲステロン製剤（Ｐｒｏｇｅｓｔｅｒｏｎｅ　ｆｏｒｍｕｌａｔｉｏｎ）からなる群より選択される少なくとも一つを挙げることができる。

実施例

[0262] 以下に実施例を挙げて本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらにより限定されるものではない。

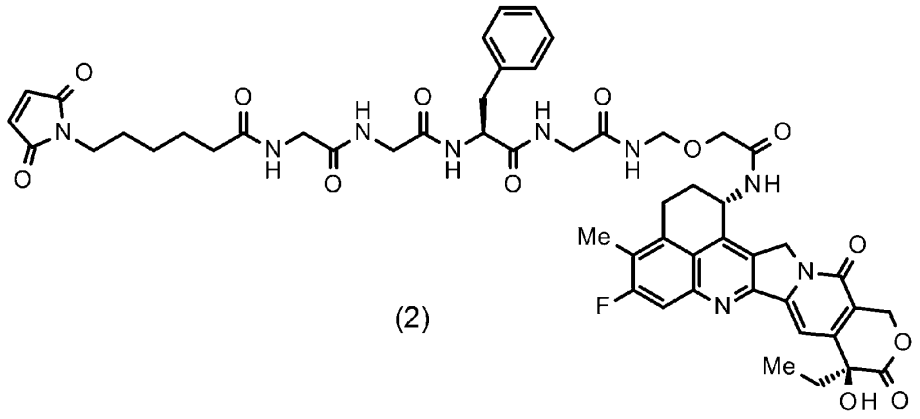
[0263] ［実施例１］緩衝液の検討

抗ＨＥＲ２抗体（配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を含む溶液を各種の緩衝液（１０ｍＭ酢酸緩衝液、１０ｍＭリン酸緩衝液、又は２０ｍＭ　ＰＩＰＥＳ緩衝液）にて希釈し、０．５ｍｏｌ／ＬのＥＤＴＡ水溶液を加えた後、各種の弱アルカリ性水溶液（０．３ｍｏｌ／Ｌのリン酸水素二ナトリウム水溶液（以下、「ａｑ．Na_2HPO_4」とも呼ぶ）、飽和酢酸ナトリウム水溶液（以下、「ａｑ．CH_3COONa」とも呼ぶ）、又は０．５ｍｏｌ／Ｌの炭酸水素ナトリウム水溶液（以下、「ａｑ．$NaHCO_3$」とも呼ぶ）を加え、ｐＨ７に調整した。３７℃攪拌下で、抗体一分子に対し４．８当量又は４．９当量のトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩（以下、「ＴＣＥＰ」とも呼ぶ）水溶液（１ｍｇ／ｍＬ）を加え攪拌し、抗体の鎖間ジスルフィドを還元した。

[0264] 得られた反応液を内温１５℃又は２５℃にて攪拌しながら、抗体に一分子に対して９．２当量又は９．８当量の式（２）

[0265]

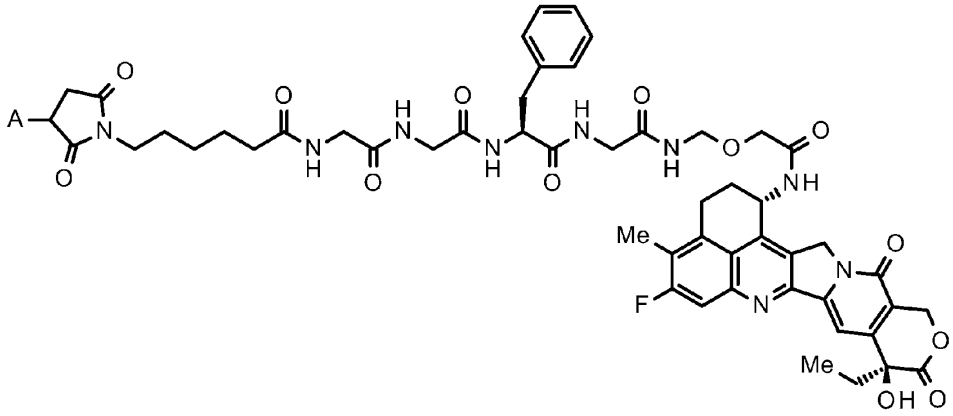
[化36]



(2)

[0266] で表される化合物（化合物（２）とも呼ぶ）を８０％ジメチルスルホキシド水溶液に溶解させた状態で加え、抗体へ結合させた。次に、５０ｍｍｏｌ／ＬのＮ－アセチルシステイン水溶液を加え、余剰の化合物（２）をクエンチさせた。これにより、式

[0267] [化37]



[0268] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗ＨＥＲ２抗体とがチオエーテル結合によって

結合した抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを得た。

得られた抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートのＤＡＲをＨＰＬＣ法にて測定した。また、凝集体の含有率をＳＥＣにて測定した。

[0269] 結果を表１に示す。

[0270] [表1]

緩衝液	pH調整	還元工程		コンジュゲーション工程		DAR	凝集体
		TCEP	内温	化合物(2)	内温		
酢酸緩衝液	aq. Na_2HPO_4	4.8 当量	37℃	9.2 当量	15℃	7.89	0.66%
酢酸緩衝液	aq. Na_2HPO_4	4.8 当量	37℃	9.2 当量	25℃	7.88	0.92%
リン酸緩衝液	aq. Na_2HPO_4	4.8 当量	37℃	9.2 当量	15℃	7.89	1.54%
PIPES緩衝液	aq. Na_2HPO_4	4.8 当量	37℃	9.2 当量	15℃	7.89	1.61%
酢酸緩衝液	aq. CH_3COONa	4.9 当量	37℃	9.8 当量	15℃	7.80	1.13%
酢酸緩衝液	aq. $NaHCO_3$	4.9 当量	37℃	9.8 当量	15℃	7.81	2.13%

[0271] 表１の結果の中では、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ調整された酢酸緩衝液を用いた場合が、凝集体の含有率は最も低い値を示した。

[0272] ［実施例２］限外濾過工程の検討（１）

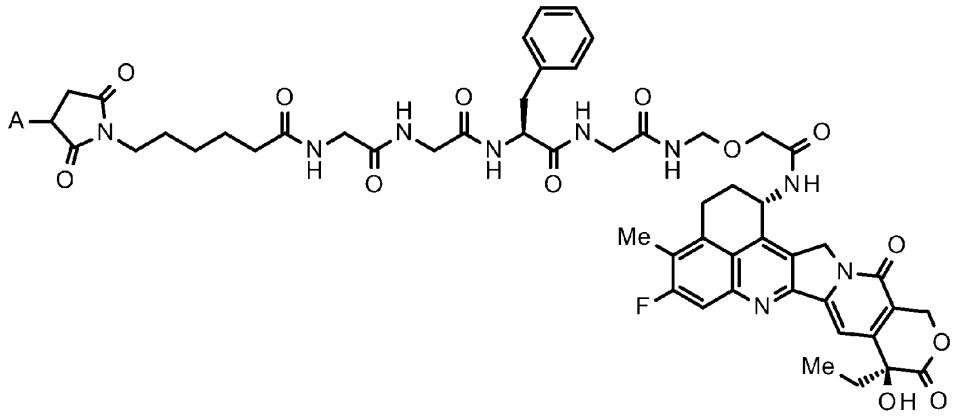
抗ＨＥＲ２抗体（配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を含む溶液を１０ｍＭ酢酸緩衝液（ｐＨ５．５）にて希釈し、０．５ｍｏｌ／ＬのＥＤＴＡ水溶液（抗体一分子に対し５当量）を加えた後、０．３ｍｏｌ／Ｌのリン酸水素二ナトリウム水溶液を加え、ｐＨ７．４に調整した。

[0273] ３５～３９℃撹拌下で、０．０１０ｍｏｌ／Ｌのトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩水溶液（抗体一分子に対し６当量）を加え内温３５～３９℃で２．５時間攪拌し、抗体の鎖間ジスルフィドを還元した。

[0274] 得られた反応液を内温１３～１７℃にて攪拌しながら、化合物（２）（抗体一分子対して１２．５当量）を８０％ジメチルスルホキシド水溶液に溶解

させた状態で加え、抗体へ結合させた。次に、０．１ｍｏｌ／ＬのＮ－アセチルシステイン水溶液（抗体一分子に対して３５当量）を加え、さらに同温度にて１時間撹拌し、余剰の化合物（２）をクエンチさせたのち、１０％酢酸水溶液を用いて、反応液をｐＨ５．０に調整した。これにより、式

[0275] [化38]



[0276] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗ＨＥＲ２抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含む反応液を得た。

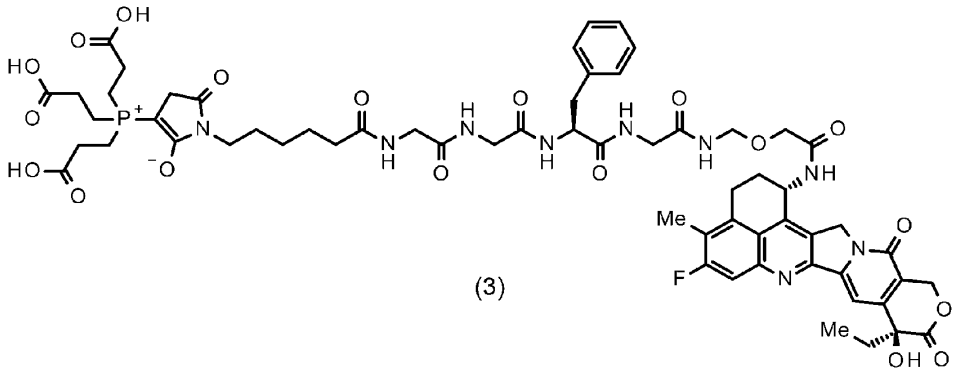
[0277] 得られた反応液を、限外濾過膜であるＰｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）ＸＬ Ｃａｓｓｅｔｔｅ Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製）を用い、ローラーポンプにて、２６ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）、又は０．５％塩化ナトリウム含有２６ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させ、限外濾過を行った。２６ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）、及び０．５％塩化ナトリウム含有２６ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）は、それぞれ、得られた反応液に対して、５倍、１０倍、又は１５倍の量を用い、限外濾過後の化合物（２）由来の副生成物の抗体－薬物コンジュゲートに対する含有率を測定した。また、比較として、限外濾過を行わない場合の、化合物（２）由来の副生成物の含有率を測定した（かかる場合、

用いた緩衝液量を０として表した）。

[0278] ここで、化合物（２）由来の副生成物としては、化合物（２）のマレイミジル基にトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィンが付加した化合物、すなわち、

式（３）

[0279] [化39]

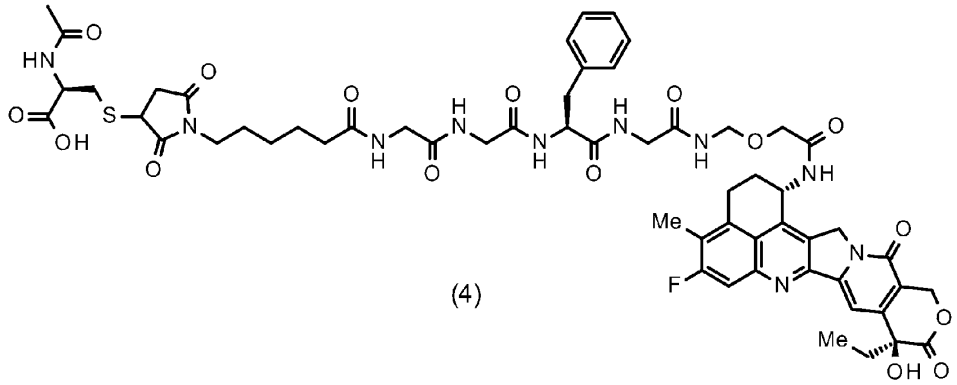


(3)

[0280] で表される化合物（化合物（３）とも呼ぶ。）、及び、化合物（２）のマレイミジル基にＮ－アセチルシステインが付加した化合物、すなわち、

式（４）

[0281] [化40]



(4)

[0282] で表される化合物（化合物（４）とも呼ぶ。）を挙げることができる。化合物（２）由来の副生成物の含有率の測定は、化合物（３）及び化合物（４）それぞれの抗体－薬物コンジュゲートに対する含有率をＨＰＬＣ法にて測定することにより行った。結果を表２及び図１に示す。

[0283] [表2]

緩衝液量/反応液量	ヒスチジン緩衝液		0．5%塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液	
	化合物(3)の含有率(%)	化合物(4)の含有率(%)	化合物(3)の含有率(%)	化合物(4)の含有率(%)
0	23.37	27.12	23.25	26.78
5	10.03	8.19	3.53	4.67
10	4.91	2.76	0.58	0.98
15	2.60	1.04	0.11	0.25

[0284] 表２の結果では、同じ緩衝液量／反応液量で比較した場合、ヒスチジン緩衝液を用いた場合よりも、塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液を用いた場合のほうが、化合物（３）及び化合物（４）の含有率は低い値を示した。

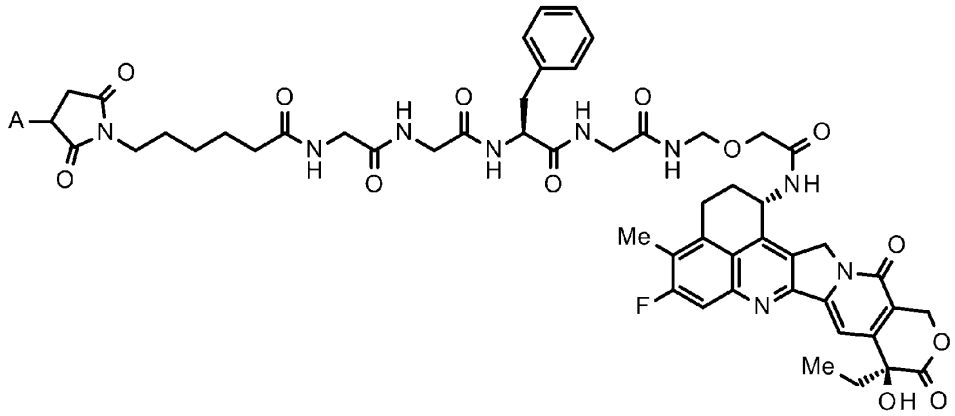
[0285] ［実施例３］限外濾過工程の検討（２）

抗ＨＥＲ２抗体（配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を含む溶液を１０ｍＭ酢酸緩衝液にて希釈し、０．５ｍｏｌ／ＬのＥＤＴＡ水溶液を加えた後、０．３ｍｏｌ／Ｌのリン酸水素二ナトリウム水溶液を加え、ｐＨ７．３に調整した。１ｍｇ／ｍＬのトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩水溶液を加え攪拌し、抗体の鎖間ジスルフィドを還元した。

[0286] 得られた反応液に、化合物（２）を８０％ジメチルスルホキシド水溶液に溶解させた状態で加え、抗体へ結合させた。次に、５０ｍｍｏｌ／ＬのＮ－アセチルシステイン水溶液を加え、余剰の化合物（２）をクエンチさせた。これにより、式

[0287]

[化41]



[0288] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗ＨＥＲ２抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含む反応溶液を得た。

[0289] 得られた反応溶液を、Ｐｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）ＸＬ Ｃａｓｓｅｔｅ Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製）を用い、ローラーポンプにて、ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０、若しくはｐＨ５．８）、又は０．４％塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０、若しくはｐＨ５．８）を加えながら循環させ、限外濾過を行った。なお、ヒスチジン緩衝液の濃度は、いずれも１０．８ｍＭのものを用いた。また、ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０及びｐＨ５．８）は、それぞれ、得られた反応溶液に対して、１５倍の量を用いた。０．４％塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０及びｐＨ５．８）は、それぞれ、得られた反応溶液に対して、１０倍の量を用いた。限外濾過後の凝集体の含有率をＳＥＣにて測定した。また、比較として、限外濾過を行わない場合の、凝集体の含有率を測定した（かかる場合、用いた緩衝液量を０として表した）。結果を表３及び図２に示す。

[0290]

[表3]

緩衝液	pH	緩衝液量/反応液量	凝集体の含有率
ヒスチジン緩衝液	5.8	0	1.36
		15	1.62
ヒスチジン緩衝液	5.0	0	1.36
		15	1.3
0. 4%塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液	5.8	0	1.49
		10	2.72
0. 4%塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液	5.0	0	1.39
		10	1.59

[0291] 表３の結果では、ｐＨ５．８の緩衝液を用いて限外濾過を行った場合、ヒスチジン緩衝液を用いた場合よりも、塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液を用いた場合のほうが凝集体の含有率は高い値を示した。一方、ｐＨ５．０の緩衝液を用いて限外濾過を行った場合、ヒスチジン緩衝液を用いた場合であっても、塩化ナトリウム含有ヒスチジン緩衝液を用いた場合であっても、凝集体の含有率は同程度の値を示した。

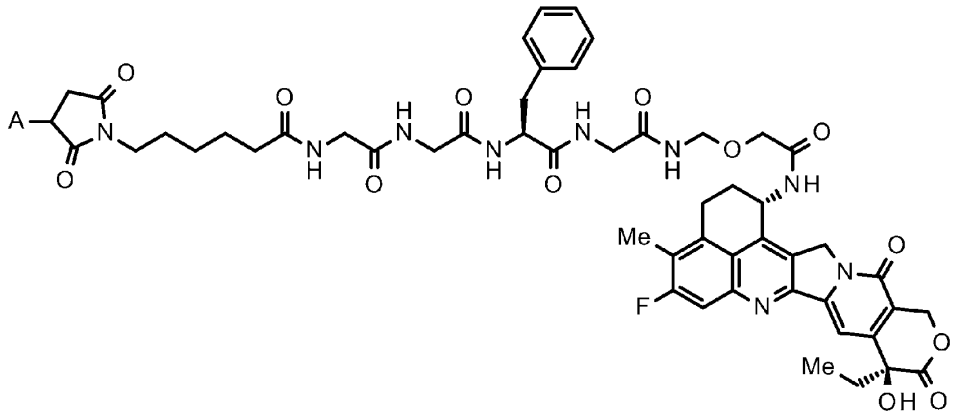
[0292] ［実施例４］抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の製造（１）

抗ＨＥＲ２抗体（配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を含む溶液（液重量５．４ｋｇ：抗体１２０ｇ相当）をガラス反応容器に入れ、更に、０．０１ｍｏｌ／Ｌ　酢酸緩衝液（４．３Ｌ、ｐＨ５．５）を加えた。本溶液に、０．５ｍｏｌ／Ｌ　ＥＤＴＡ水溶液（８．３ｍＬ；抗体に対し５当量）を加えたのち、０．３ｍｏｌ／Ｌリン酸水素二ナトリウム水溶液を加えｐＨ７．３に調整した。３５～３９℃撹拌下で、０．０１０ｍｏｌ／Ｌ　トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩水溶液（３９０ｍＬ；抗体一分子に対して４．７当量）を加え、内温を３５～３９℃で２時間攪拌し、抗体の鎖

間ジスルフィドを還元した。

[0293] 得られた反応液を冷却し、内温１３～１７℃にて、攪拌下、化合物（２）（８．２ｇ；抗体に一分子対して９．７当量）を８０％ジメチルスルホキシド水溶液（９００ｍＬ）にて溶解させたものを２０分かけて加え、同温度にて１時間撹拌し、抗体へ結合させた。次に、０．１ｍｏｌ／Ｌ　Ｎ－アセチルシステイン水溶液（２１０ｍＬ；抗体一分子に対して２５当量）を加え、さらに同温度にて１時間撹拌し、余剰の化合物（２）をクエンチさせたのち、１０％酢酸水溶液を用いて、ｐＨ５．０に調整した。これにより、式

[0294] [化42]



[0295] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗ＨＥＲ２抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を得た。

[0296] 得られた溶液を、Ｐｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）２　Ｍｉｎｉ　Ｃａｓｓｅｔｔｅ　Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製、０．１m^2）３枚を用い、ローラーポンプにて、０．５％塩化ナトリウム含有２６ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることにより限外濾過を行い、化合物（２）由来の副生成物を除去した。さらに、２６ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることに限外濾過を行い、塩化ナ

トリウムを除去した。次に、ヒスチジン水溶液にてｐＨ５．５に調整し、さらに濃縮を行うことで、抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含有する溶液を約４Ｌ取得した。

[0297] さらに、上記の溶液のうち３．８６ｋｇ分に対し、スクロース３６４ｇを添加し溶解させた。さらに９％スクロース含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．５）を加え、タンパク質濃度を約２０ｍｇ／ｍＬに調整し、抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物（５．７ｋｇ）を得た。得られた医薬組成物は、タンパク質濃度：２０．４ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：１１２ｇ、抗体一分子あたりの平均薬物結合数（ｎ）：７．７であった。

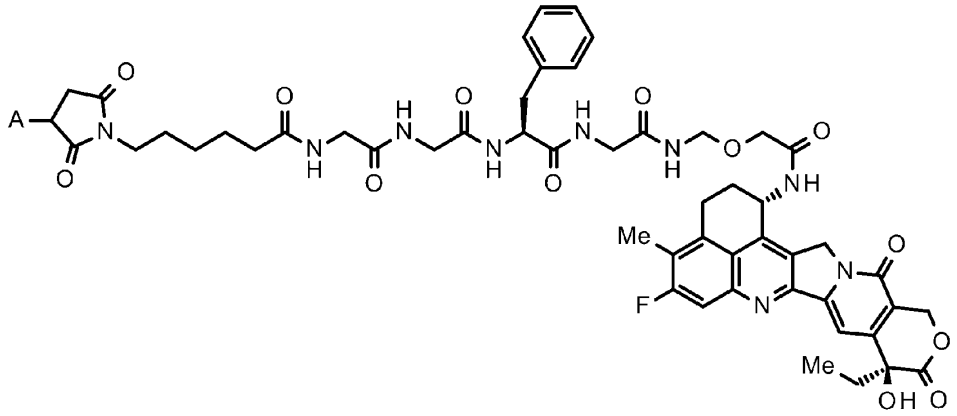
[0298] ［実施例５］抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の製造（２）

抗ＨＥＲ２抗体（配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を含む溶液（液重量８９ｇ：抗体２．０ｇ相当）をガラス反応容器に入れ、更に、０．０１ｍｏｌ／Ｌ 酢酸緩衝液（７２ｍＬ、ｐＨ５．５）を加えた。本溶液に、０．５ｍｏｌ／Ｌ ＥＤＴＡ水溶液（０．１４ｍＬ；抗体に対し５当量）を加えたのち、０．３ｍｏｌ／Ｌリン酸水素二ナトリウム水溶液を加えｐＨ７．３に調整した。３５～３９℃撹拌下で、０．０１０ｍｏｌ／Ｌ トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩水溶液（６．３ｍＬ；抗体一分子に対して４．６当量）を加え、内温を３５～３９℃で２時間攪拌し、抗体の鎖間ジスルフィドを還元した。

[0299] 得られた反応液を冷却し、内温１３～１７℃にて攪拌下、化合物（２）（１４０ｍｇ；抗体に一分子対して９．６当量）を８０％ジメチルスルホキシド水溶液（１３ｍＬ）にて溶解させたものを添加し、同温度にて１時間撹拌し、抗体へ結合させた。次に、０．１ｍｏｌ／Ｌ Ｎ－アセチルシステイン水溶液（３．４ｍＬ；抗体一分子に対して２５当量）を加え、さらに同温度にて４０分撹拌し、余剰の化合物（２）をクエンチさせたのち、１０％酢酸

水溶液を用いて、ｐＨ５．０に調整した。これにより、式

[0300] [化43]



[0301] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗ＨＥＲ２抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を得た。

[0302] 得られた溶液に塩化ナトリウム１ｇを添加した後、Ｐｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）ＸＬ Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製、５０ｃｍ^2）を用い、ローラーポンプにて、０．５％塩化ナトリウム含有２６ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることにより限外濾過を行い、化合物（２）由来の副生成物を除去した。さらに、２６ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることにより限外濾過を行い、塩化ナトリウムを除去した。次に、ヒスチジン水溶液にてｐＨ５．５に調整しながら濃縮を行うことで、抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含有する溶液を約６５ｇ（６４．５ｇ、６４．１ｍＬ、タンパク質濃度：２８．５ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：１．８３ｇ）取得した。

[0303] さらに、上記の溶液のうち６４ｇ分に対し、スクロース７．７ｇ含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．５）１９ｍＬを添加し、さらに９％スクロース含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．５）を加え、タンパク質濃度を約２０ｍｇ／ｍ

Ｌに調整し、抗ＨＥＲ２抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物（９３ｇ）を得た。得られた医薬組成物は、タンパク質濃度：２０．３ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：１．８ｇ、抗体一分子あたりの平均薬物結合数（ｎ）：７．８であった。

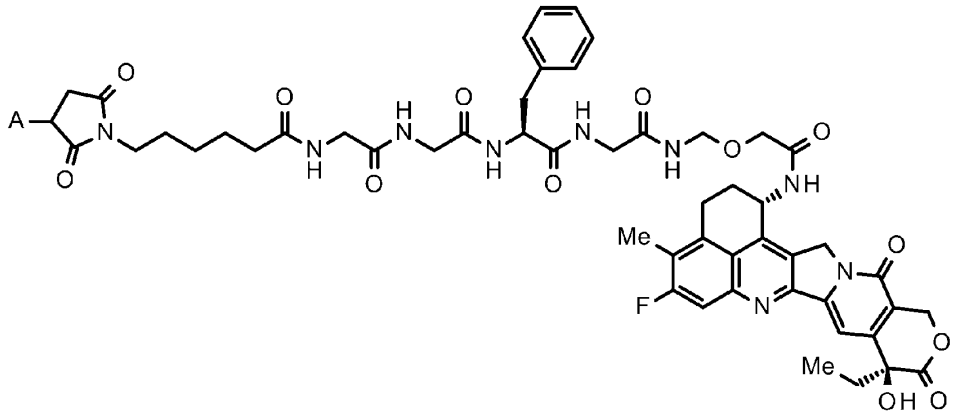
[0304] ［実施例６］抗ＨＥＲ３抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の製造

抗ＨＥＲ３抗体（配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を含む溶液（液重量４３．９５ｋｇ：抗体３．００ｋｇ相当）を４００Ｌシングルユースリアクターに入れ、更に、ポリソルベート２０（６０．０ｇ）、０．５ｍｏｌ／Ｌ　ＥＤＴＡ水溶液（２２４．５ｇ；抗体に対し５当量）を含む０．０１ｍｏｌ／Ｌ　酢酸緩衝液（ｐＨ５．５、２５５ｋｇ）を加えた。本溶液に、０．３ｍｏｌ／Ｌリン酸水素二ナトリウム水溶液を加えｐＨ７．０に調整した。３３～３７℃攪拌下で、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩（３５．１ｇ；抗体一分子に対して６．０当量）を含む水溶液（１２．３ｋｇ）加え、内温を３３～３７℃で２．５時間攪拌し、抗体の鎖間ジスルフィドを還元した。

[0305] 得られた反応液を冷却し、内温１２～１７℃にて攪拌下、化合物（２）（２００．５ｇ；抗体に一分子対して９．５当量）を、１０％酢酸水溶液（１１６．４ｇ）を含む８０％ジメチルスルホキシド水溶液（２１．１ｋｇ）にて溶解させたものを５０分かけて添加し、同温度にて０．５時間撹拌し、抗体へ結合させた。次に、０．１ｍｏｌ／Ｌ　Ｎ－アセチルシステイン水溶液（３．１１ｋｇ；抗体一分子に対して１５当量）を加え、さらに同温度にて０．５時間撹拌し、余剰の化合物（２）をクエンチさせたのち、１０％酢酸水溶液を用いて、ｐＨ５．０に調整した。これにより、式

[0306]

[化44]



[0307] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗ＨＥＲ３抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗ＨＥＲ３抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を得た。

[0308] 得られた溶液を、Ｐｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）２ Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製、２．５m^2）を４枚用い、自動限外濾過装置にて、０．５％塩化ナトリウム含有２６．５ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることにより限外濾過を行い、化合物（２）由来の副生成物を除去した。さらに、２６．５ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることに限外濾過を行い、塩化ナトリウムを除去した。次に、２６．５ｍＭヒスチジン水溶液にてｐＨ５．４に調整しながら濃縮を行うことで、抗ＨＥＲ３抗体－薬物コンジュゲートを含有する溶液を９７．４ｋｇ（９６．５Ｌ、タンパク質濃度：３０．５ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：２．９４ｋｇ）取得した。

[0309] さらに、上記の溶液のうち４８．６ｋｇ分に対し、スクロース６．２９ｋｇを含むヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．４、２４．３ｋｇ）を添加し、さらにポリソルベート２０（７．６ｇ）を含む９％スクロース含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．４、４．２５ｋｇ）を加え、タンパク質濃度を約２０ｍｇ／ｍ

Ｌに調整し、抗ＨＥＲ３抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物（７７．１ｋｇ）を得た。得られた医薬組成物は、タンパク質濃度：１９．９ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：１．４９ｋｇ、抗体一分子あたりの平均薬物結合数（ｎ）：７．６であった。

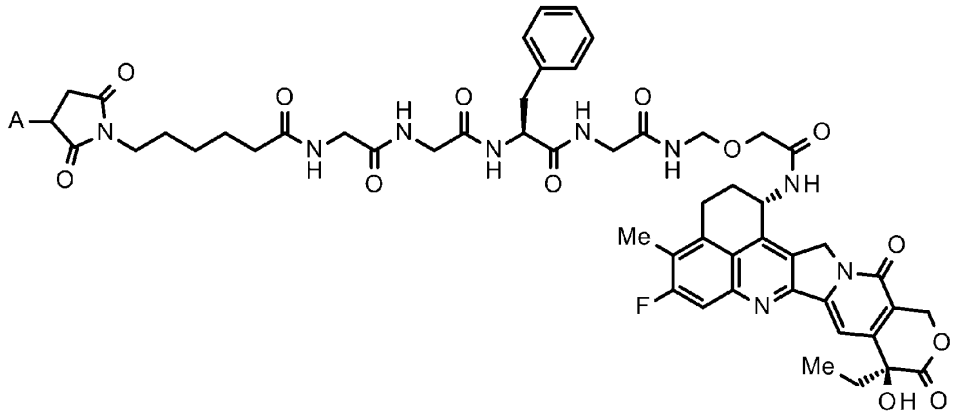
[0310] ［実施例７］抗ＧＰＲ２０抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の製造

抗ＧＰＲ２０抗体（配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を含む溶液（液重量２４．２ｋｇ：抗体０．９４ｋｇ相当）を２００Ｌリアクターに入れ、更にポリソルベート８０（１４．４ｇ）を含む２６ｍＭヒスチジン水溶液（５７．６ｋｇ）を加えた。３０℃に昇温し、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩（９．０６ｇ；抗体一分子に対して４．９当量）を含む水溶液（３．１７ｋｇ）加え、内温３０℃で３時間攪拌し、抗体の鎖間ジスルフィドを還元した。

[0311] 得られた反応液を冷却し、内温１５℃にて攪拌下、化合物（２）（６３．５ｇ；抗体一分子に対して９．０当量）を、酢酸（３．７ｇ）を含む８０％ジメチルスルホキシド水溶液（７．２６ｋｇ）にて溶解させたものを５５分かけて添加し、同温度にて０．５時間撹拌し、抗体へ結合させた。次に０．１Ｍ　Ｎ－アセチルシステイン水溶液（１．００ｋｇ；抗体一分子に対して１５当量）を加え、更に同温度にて０．５時間攪拌し、余剰の化合物（２）をクエンチさせたのち、１０％酢酸水溶液を用いて、ｐＨ５．０に調整した。これにより、式

[0312]

[化45]



[0313] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗ＧＰＲ２０抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗ＧＰＲ２０抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を得た。

[0314] 得られた溶液を、Ｐｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）２ Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製、２．５m^2）を２枚用い、限外濾過装置にて、０．５％塩化ナトリウム含有１１ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることにより限外濾過を行い、化合物（２）由来の副生成物を除去した。更に１１ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることにより限外濾過を行い、塩化ナトリウムを除去した。次に１１ｍＭヒスチジン水溶液にてｐＨ５．４に調整しながら濃縮を行うことで、抗ＧＰＲ２０抗体－薬物コンジュゲートを含有する溶液（３１．８ｋｇ、タンパク質濃度：２９．９ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：０．９４ｋｇ）を取得した。

[0315] 更に上記の溶液に対し、スクロース４．００ｋｇを含むヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．４、１４．９ｋｇ）を添加し、更にポリソルベート８０（４．５ｇ）を含む９％スクロース含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．４、３．００ｋｇ）を加え、タンパク質濃度を約２０ｍｇ／ｍＬに調整し、抗ＧＰＲ２０抗

体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物（４９．３ｋｇ）を得た。得られた医薬組成物は、タンパク質濃度：１９．９ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：０．９４ｋｇ、抗体一分子あたりの平均薬物結合数（ｎ）：７．８であった。

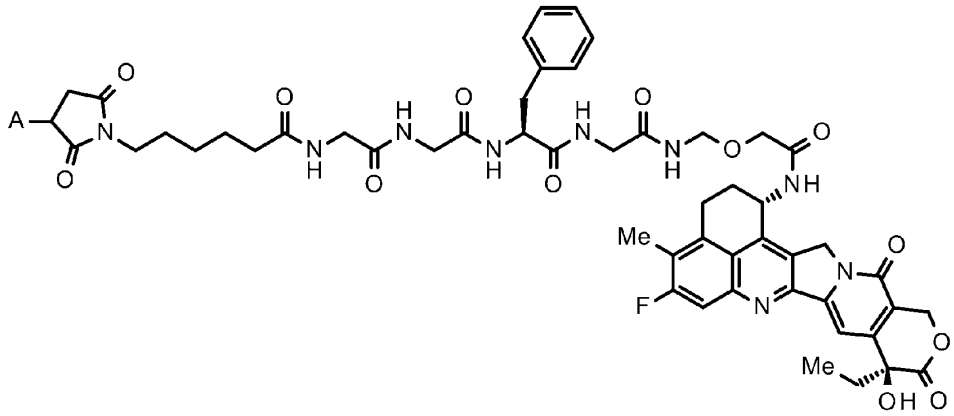
[0316] ［実施例８］抗ＣＤＨ６抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物の製造

抗ＣＤＨ６抗体（配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を含む溶液（液重量２．５６ｋｇ：抗体１００ｇ相当）を１４Ｌリアクターに入れ、更にポリソルベート８０（１．５０ｇ）、０．５Ｍ　ＥＤＴＡ水溶液（７．５４ｇ；抗体に対し５当量）を含む１００ｍＭヒスチジン水溶液（６．００ｋｇ）を加えた。３０℃に昇温し、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩（９４５ｍｇ；抗体一分子に対して４．８当量）を含む水溶液（３３０ｇ）加え、内温３０℃で３時間攪拌し、抗体の鎖間ジスルフィドを還元した。

[0317] 得られた反応液を冷却し、内温１５℃にて攪拌下、化合物（２）（６．９６ｇ；抗体一分子に対して９．１当量）を、１０％酢酸水溶液（３．８９ｇ）を含む８０％ジメチルスルホキシド水溶液（６８７ｇ）にて溶解させたものを４１分かけて添加し、同温度にて０．４時間撹拌し、抗体へ結合させた。次に０．１Ｍ　Ｎ－アセチルシステイン水溶液（１０３ｇ；抗体一分子に対して１５当量）を加え、更に同温度にて０．６時間攪拌し、余剰の化合物（２）をクエンチさせたのち、１０％酢酸水溶液を用いて、ｐＨ５．０に調整した。これにより、式

[0318]

[化46]



[0319] （式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗ＣＤＨ６抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗ＣＤＨ６抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を得た。

[0320] 得られた溶液を、Ｐｅｌｌｉｃｏｎ（登録商標）２ Ｕｌｔｒａｃｅｌ（登録商標）（メルク社製、０．５m^2）を１枚用い、限外濾過装置にて、０．５％塩化ナトリウム含有１１ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることにより限外濾過を行い、化合物（２）由来の副生成物を除去した。更に１１ｍＭヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．０）を加えながら循環させることにより限外濾過を行い、塩化ナトリウムを除去した。次に１１ｍＭヒスチジン水溶液にてｐＨ５．４に調整しながら濃縮を行うことで、抗ＣＤＨ６抗体－薬物コンジュゲートを含有する溶液（２．９７ｋｇ、タンパク質濃度：３１．８ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：９３．７ｇ）を取得した。

[0321] 更に上記の溶液に対し、スクロース（４０１ｇ）を含むヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．４、１．６７ｋｇ）を添加し、更にポリソルベート８０（４３７ｍｇ）を含む９％スクロース含有ヒスチジン緩衝液（ｐＨ５．４、２７６ｇ）を加え、タンパク質濃度を約２０ｍｇ／ｍＬに調整し、抗ＣＤＨ６抗体－薬物コンジュゲートを含む医薬組成物（４．８１ｋｇ）を得た。得られた医

薬組成物は、タンパク質濃度：２０．２ｍｇ／ｍＬ、タンパク質収量：９３．２ｇ、抗体一分子あたりの平均薬物結合数（ｎ）：７．８であった。

配列表フリーテキスト

[0322] 配列番号１：抗ＨＥＲ２抗体重鎖のアミノ酸配列

配列番号２：抗ＨＥＲ２抗体軽鎖のアミノ酸配列

配列番号３：抗ＨＥＲ３抗体重鎖のアミノ酸配列

配列番号４：抗ＨＥＲ３抗体軽鎖のアミノ酸配列

配列番号５：抗ＧＰＲ２０抗体重鎖のアミノ酸配列

配列番号６：抗ＧＰＲ２０抗体軽鎖のアミノ酸配列

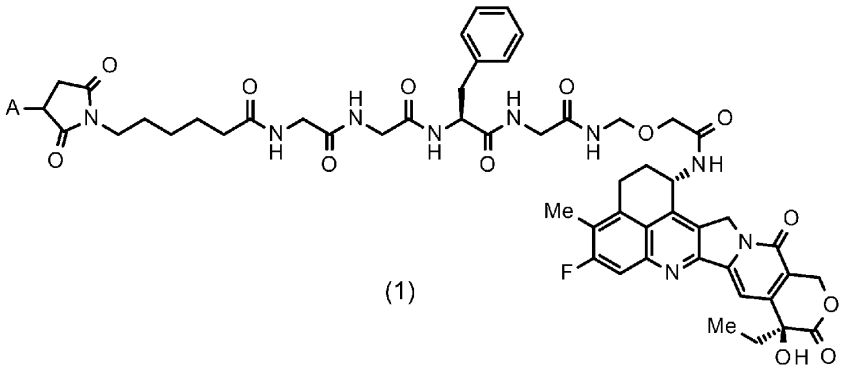
配列番号７：抗ＣＤＨ６抗体重鎖のアミノ酸配列

配列番号８：抗ＣＤＨ６抗体軽鎖のアミノ酸配列

請求の範囲

[請求項1] 式（１）

[化1]



(1)

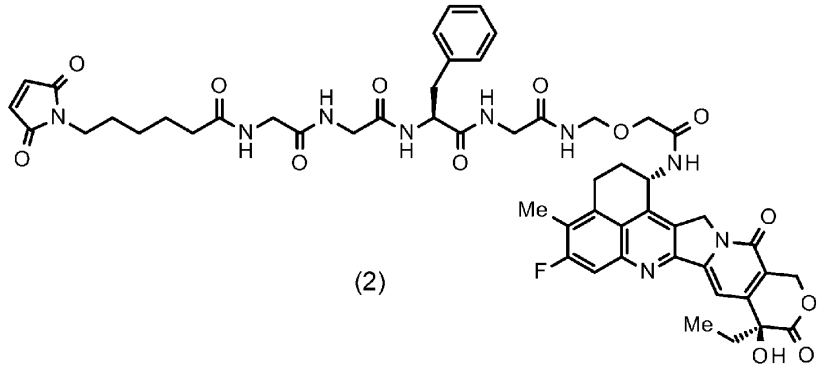
（式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、還元剤で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[化2]



(2)

で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工

程、

（ｉｉｉ）チオール基を有する試薬を添加し、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させる工程、次いで、

（ｉｖ）強酸と強塩基からなる塩を含有する緩衝液を用いた限外濾過により、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉ）の工程で使用される還元剤が付加した化合物、及び、式（２）で表される化合物のマレイミジル基に（ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が付加した化合物を除去する工程、

を含むことを特徴とする、製造方法。

[請求項2] （ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン又はその塩である、請求項１に記載の製造方法。

[請求項3] （ｉ）の工程で使用される還元剤が、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩である、請求項１に記載の製造方法。

[請求項4] （ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、請求項１から３のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項5] 緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、請求項４に記載の製造方法。

[請求項6] 緩衝液が、酢酸緩衝液である、請求項４又は５に記載の製造方法。

[請求項7] （ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、請求項１から６のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項8] キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、請求項７に記載の製造方法。

[請求項9] （ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、請求項４から８のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項10] 界面活性剤が、ポリソルベート２０である、請求項９に記載の製造方法。

[請求項11] 界面活性剤が、ポリソルベート８０である、請求項９に記載の製造方法。

[請求項12] （ｉｉｉ）の工程で使用されるチオール基を有する試薬が、Ｎ－アセチルシステインである、請求項１から１１のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項13] （ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、請求項１から１２のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項14] （ｉｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、請求項１から１３のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項15] （ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、請求項１から１４のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項16] （ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩の濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、請求項１から１４のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項17] （ｉｖ）の工程で使用される強酸と強塩基からなる塩が、塩化ナトリウムである、請求項１から１６のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項18] （ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）緩衝液を用いた限外濾過により、強酸と強塩基からなる塩を除去する工程、

を含む、請求項１から１７のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項19] （ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、請求項１８に記載の製造方法。

[請求項20] （ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、請求項１８に記載の製造方法。

[請求項21] （ｖ）の工程で使用される緩衝液が、ヒスチジン緩衝液である、請求項１８から２０のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項22] 抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、請求項１から２１のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項23] 抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、請求項１から２１のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項24] 抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、請求項１から２３のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項25] 抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項２４に記載の製造方法。

[請求項26] 抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項２４に記載の製造方法。

[請求項27] 抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、請求項１から２３のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項28] 抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項２７に記載の製造方法。

[請求項29] 抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項２８に記載の製造方法。

[請求項30] 抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、請求項１から２３のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項31] 抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項３０に記載の製造方法。

[請求項32] 抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項３１に記載の製造方法。

[請求項33] 抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、請求項１から２３のいずれか１項

に記載の製造方法。

[請求項34] 抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項３３に記載の製造方法。

[請求項35] 抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項３４に記載の製造方法。

[請求項36] クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、請求項１から３５のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項37] クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項３６に記載の製造方法。

[請求項38] 請求項１から３７のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の製造方法。

[請求項39] 緩衝液がヒスチジン緩衝液である、請求項３８に記載の製造方法。

[請求項40] 賦形剤がスクロースである、請求項３８又は３９に記載の製造方法。

[請求項41] 賦形剤がトレハロースである、請求項３８又は３９に記載の製造方法。

[請求項42] 請求項３８から４１のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

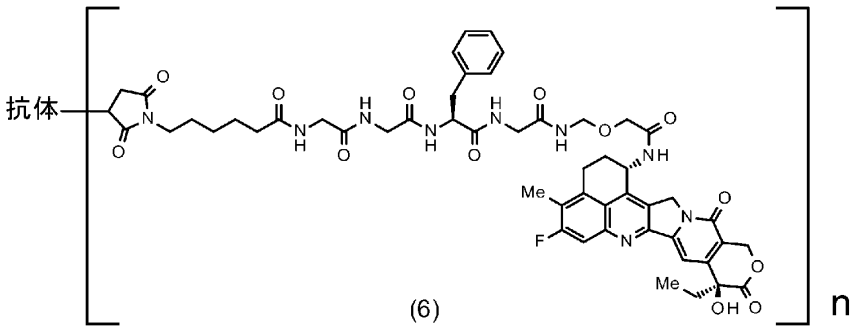
抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

[請求項43] 界面活性剤が、ポリソルベート８０である、請求項４２に記載の製造方法。

[請求項44] 界面活性剤が、ポリソルベート２０である、請求項４２に記載の製造方法。

[請求項45] 式（６）

[化3]



(6)

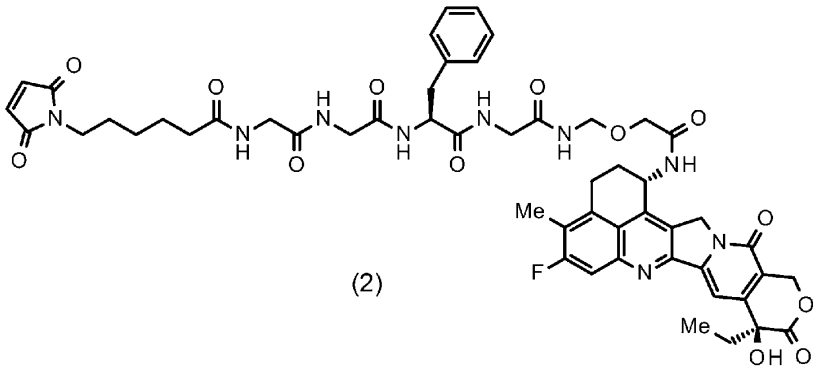
（式中、薬物リンカーは抗体とチオエーテル結合によって結合しており、ｎは１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す）

で示される抗体－薬物コンジュゲートの製造方法であって、

（ｉ）抗体を、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩で還元する工程、

（ｉｉ）式（２）

[化4]



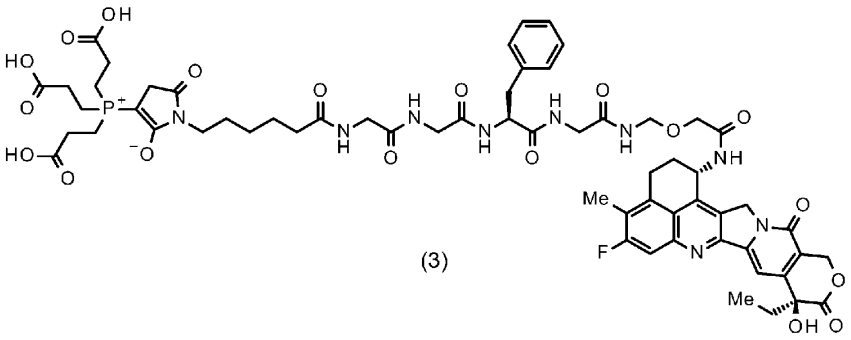
(2)

で表される化合物を、（ｉ）の工程で還元された抗体と反応させる工程、

（ｉｉｉ）Ｎ－アセチルシステインを添加し、（ｉｉ）の工程で残存した式（２）で表される化合物と反応させる工程、次いで、

（ｉｖ）塩化ナトリウムを含有するヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、式（３）

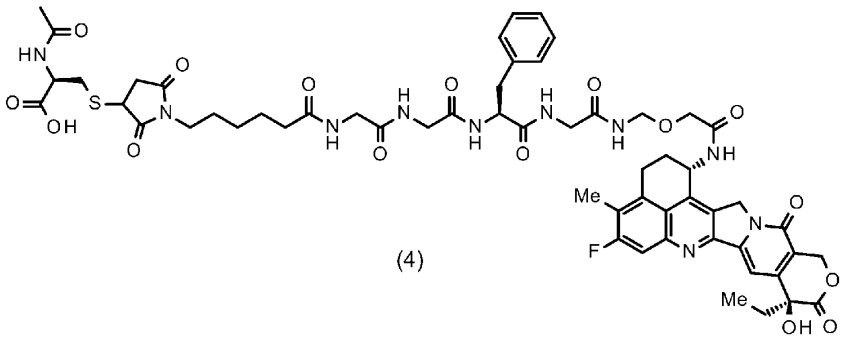
[化5]



(3)

で表される化合物、及び、式（４）

[化6]



(4)

で表される化合物を除去する工程、

を含むことを特徴とする、製造方法。

[請求項46] （ｉ）の工程が緩衝液中で行われる、請求項４５に記載の製造方法。

[請求項47] 緩衝液が、リン酸水素二ナトリウム水溶液でｐＨ６～８に調整された緩衝液である、請求項４６に記載の製造方法。

[請求項48] 緩衝液が、酢酸緩衝液である、請求項４６又は４７に記載の製造方法。

[請求項49] （ｉ）の工程が、キレート剤の存在下で行われる、請求項４５から４８のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項50] キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸である、請求項４９に記載の製造方法。

[請求項51] （ｉ）の工程で使用される緩衝液が、界面活性剤を含有する、請求項４５から５０のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項52] 界面活性剤が、ポリソルベート２０である、請求項５１に記載の製造方法。

[請求項53] 界面活性剤が、ポリソルベート８０である、請求項５１に記載の製造方法。

[請求項54] （ｉｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、請求項４５から５３のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項55] （ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し０．２～１重量％である、請求項４５から５４のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項56] （ｉｖ）の工程で使用される塩化ナトリウムの濃度が、（ｉｖ）の工程で使用される緩衝液に対し約０．５重量％である、請求項４５から５４のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項57] （ｉｖ）の工程に次いで、

（ｖ）ヒスチジン緩衝液を用いた限外濾過により、塩化ナトリウムを除去する工程、

を含む、請求項４５から５６のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項58] （ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが４～６の範囲である、請求項５７に記載の製造方法。

[請求項59] （ｖ）の工程で使用される緩衝液のｐＨが約５である、請求項５７に記載の製造方法。

[請求項60] 抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７から８個の範囲である、請求項４５から５９のいずれ

か１項に記載の製造方法。

[請求項61] 抗体－薬物コンジュゲートにおける１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数が７．５から８個の範囲である、請求項４５から５９のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項62] 抗体が、抗ＨＥＲ２抗体である、請求項４５から６１のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項63] 抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号１乃至４４９に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号１乃至２１４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項６２に記載の製造方法。

[請求項64] 抗ＨＥＲ２抗体が、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項６２に記載の製造方法。

[請求項65] 抗体が、抗ＨＥＲ３抗体である、請求項４５から６１のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項66] 抗ＨＥＲ３抗体が、配列番号３に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項６５に記載の製造方法。

[請求項67] 抗ＨＥＲ３抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項６６に記載の製造方法。

[請求項68] 抗体が、抗ＧＰＲ２０抗体である、請求項４５から６１のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項69] 抗ＧＰＲ２０抗体が、配列番号５においてアミノ酸番号２０乃至４７２に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号６においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項６８に記載の製造方法。

[請求項70] 抗ＧＰＲ２０抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項６９に記載の製造方法。

[請求項71] 抗体が、抗ＣＤＨ６抗体である、請求項４５から６１のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項72] 抗ＣＤＨ６抗体が、配列番号７においてアミノ酸番号２０乃至４７１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号８においてアミノ酸番号２１乃至２３３に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体である、請求項７１に記載の製造方法。

[請求項73] 抗ＣＤＨ６抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項７２に記載の製造方法。

[請求項74] クロマトグラフィーによる精製工程を含まないことを特徴とする、請求項４５から７３のいずれか１項に記載の製造方法。

[請求項75] クロマトグラフィーが、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、及びアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される少なくとも一つである、請求項７４に記載の製造方法。

[請求項76] 請求項４５から７５のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲートを製造し、さらに、

（ｖｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に緩衝液を添加する工程、

（ｖｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を濃縮する工程、及び、

（ｖｉｉｉ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液を所定のｐＨに調整する工程、

からなる群より選択される少なくとも一つの工程、

並びに、

（ｉｘ）抗体－薬物コンジュゲートを含む溶液に賦形剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物の

製造方法。

[請求項77] 緩衝液がヒスチジン緩衝液である、請求項７６に記載の製造方法。

[請求項78] 賦形剤がスクロースである、請求項７６又は７７に記載の製造方法。

[請求項79] 賦形剤がトレハロースである、請求項７６又は７７に記載の製造方法。

[請求項80] 請求項７６から７９のいずれか１項に記載の製造方法により、抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、及び賦形剤を含む医薬組成物を製造し、さらに、

（ｘ）該医薬組成物に界面活性剤を添加する工程、

を含む工程を施すことによる、

抗体－薬物コンジュゲート、緩衝液、賦形剤、及び界面活性剤を含む医薬組成物の製造方法。

[請求項81] 界面活性剤が、ポリソルベート８０である、請求項８０に記載の製造方法。

[請求項82] 界面活性剤が、ポリソルベート２０である、請求項８０に記載の製造方法。