

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成24年6月28日(2012.6.28)

【公表番号】特表2012-511026(P2012-511026A)

【公表日】平成24年5月17日(2012.5.17)

【年通号数】公開・登録公報2012-019

【出願番号】特願2011-539761(P2011-539761)

【国際特許分類】

C 07 K 16/18 (2006.01)

C 07 K 16/28 (2006.01)

【F I】

C 07 K 16/18 Z N A

C 07 K 16/28

【手続補正書】

【提出日】平成24年3月26日(2012.3.26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

抗脂抗体または抗原に結合可能な抗脂抗体のフラグメントを含む結晶であって、前記脂質は任意に生物活性脂質であり、任意にスフィンゴ脂質またはリゾ脂質である、結晶。

【請求項2】

前記抗脂抗体または抗原に結合可能な抗脂抗体のフラグメントは、前記抗脂抗体または抗原に結合可能な抗脂抗体のフラグメントの脂質リガンドと複合体を形成している、請求項1に記載の結晶。

【請求項3】

表10または表11に示す構造座標を有する、請求項1または2に記載の結晶。

【請求項4】

コンピュータで読み出し可能なデータを記録するコンピュータで読み出し可能な記録媒体であって、前記データは、表10または表11に示す構造座標の全部または選択された一部を含む、コンピュータで読み出し可能な記録媒体。

【請求項5】

請求項1ないし3のいずれか1項に記載の結晶の使用であって、抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメントと当該抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメントに特異的に結合可能な脂質との親和性が変わるように、前記抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメントを設計、改変、または最適化するのに用いられる、結晶の使用。

【請求項6】

抗脂抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメントと脂質リガンドとの共結晶を調製する方法であって：

a. 抗脂モノクローナル抗体または抗原に結合可能な抗脂モノクローナル抗体のフラグメントを提供する工程と、ここで、前記フラグメントは任意にFabフラグメントである；

b. 抗体リガンド複合体または抗体フラグメントリガンド複合体が形成される条件下で、前記抗体または抗体フラグメントと、過剰なモル量の脂質リガンドとを混合する工程と；

c. 抗体 リガンド共結晶または抗体フラグメント リガンド共結晶が形成される条件下で、前記抗体 リガンド複合体または前記抗体フラグメント リガンド複合体をインキュベートし、これにより、抗体または抗体のフラグメントと脂質リガンドとの共結晶を生成する工程と；

を含む、方法。

【請求項 7】

抗脂抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメントを設計する方法であって、

a. 第1の脂質に特異的に結合する第1の抗脂抗体または第1の抗体フラグメントの可変領域のアミノ酸配列を提供する工程と；

b. 任意に、前記アミノ酸配列の相補性決定領域を少なくとも1つ特定する工程と；

c. 前記可変領域内のアミノ酸の少なくとも1つを別のアミノ酸に置換して、変異体の可変領域を作り出す工程と；

d. 前記変異体の可変領域を含む第2の抗脂抗体または第2の抗体フラグメントを作製する工程と；

e. 前記第2の抗脂抗体または第2の抗体フラグメントの活性基準を少なくとも1つ決定する工程と、ここで、この決定は、任意に分子モデリング、ELISAまたは表面プラズモン共鳴によってなされる；

f. 前記決定された活性基準の少なくとも1つに基づいて、抗脂抗体または抗体のフラグメントを選択する工程と、ここで、前記抗脂抗体または抗体のフラグメントは、親抗体または親抗体フラグメントのアミノ酸配列と異なったアミノ酸配列を有する；

を含む、方法。

【請求項 8】

下記a.～d.の少なくとも1つを含む、請求項7に記載の方法：

a. 前記工程e.における活性基準は、前記第1の脂質に対する結合親和性、第2の脂質に対する結合親和性、前記第1の脂質に対する特異性、および第2の脂質に対する特異性からなる群から選択される、ここで、前記第1の脂質および第2の脂質は異なる；

b. 方法全体または方法の一部分が、in silicoで行われる；

c. 前記第1の抗脂抗体または第1の抗体フラグメントと前記第1の脂質との結合に関する三次元構造の情報を用いて、前記工程c.におけるアミノ酸置換の位置または種類を選択する、ここで、任意に、前記三次元構造の情報は、分子モデリングまたはX線結晶構造解析に基づくデータである；

d. 前記工程c.におけるアミノ酸置換の少なくとも1つは、前記可変領域内に存在する相補性決定領域内で行われる。

【請求項 9】

請求項7または8に記載の方法によって作製された抗脂抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメントであって：

任意に、前記抗脂抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメントは、LT1009抗体の変異体であり、

前記LT1009抗体の可変領域内のアミノ酸の少なくとも1つが、別のアミノ酸に置換されることにより、前記LT1009抗体の変異体は、前記LT1009抗体とは異なるアミノ酸配列を有し、

前記置換されたアミノ酸の少なくとも1つは、軽鎖内の位置30、31および32におけるアスパラギン酸、位置50におけるグルタミン酸、位置92におけるアスパラギン酸、位置94におけるロイシン、および位置96におけるフェニルアラニン；および重鎖内の位置33におけるトレオニン、位置35におけるヒスチジン、位置50におけるアラニン、位置52におけるセリン、位置54におけるヒスチジン、位置56におけるイソロイシン、位置58におけるリシン、位置97におけるフェニルアラニン、位置98におけるチロシン、位置99におけるグリシン、位置100におけるセリン、位置100Aにおけるトレオニン、および位置100Cにおけるトリプトファン、からなる群から選択される

抗脂抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメント。【請求項 10】任意に in silico で行われ、下記 a. または b. の方法を含む方法：a. 標的生物活性脂質と特異的に反応するコンセンサス抗脂抗体または抗原に結合可能な抗体のフラグメントを設計する方法であって、

(i) 標的生物活性脂質と特異的に反応する第 1 の親抗体または抗体フラグメント種からの少なくとも第 1 の CDR アミノ酸配列と、前記標的生物活性脂質と特異的に反応する第 2 の親抗体または抗体フラグメント種からの少なくとも第 2 の CDR アミノ酸配列とを特定する工程と、ここで、前記第 1 の CDR および第 2 の CDR アミノ酸配列は、どちらも CDRH1、どちらも CDRH2、どちらも CDRH3、どちらも CDRL1、どちらも CDRL2、またはどちらも CDRL3 のアミノ酸配列である；

(ii) 前記第 1 の CDR アミノ酸配列および第 2 の CDR アミノ酸配列を整列させて、コンセンサス CDR アミノ酸配列を決定する工程と；

(iii) 前記コンセンサス CDR アミノ酸配列をコードする核酸配列を、抗体の重鎖または軽鎖の可変領域を含む遺伝子内に導入して、標的生物活性脂質に対して特異的に反応するコンセンサス抗脂抗体を設計する工程と；任意に、

(iv) 前記標的生物活性脂質に結合する抗体または抗体フラグメントを生産する工程と；

を含む、方法；

b. 標的生物活性脂質に対して特異的に反応する抗体変異体または抗体フラグメント変異体を設計する方法であって、

(i) 基となる生物活性脂質に対して特異的に結合する抗体または抗体のフラグメントと標的生物活性脂質とを関連づけて、前記抗体または抗体のフラグメントが前記標的生物活性脂質に結合した状態の第 1 の構造を具象化する工程と、ここで、前記基となる生物活性脂質および前記標的生物活性脂質は同一種の生物活性脂質または異なる種の生物活性脂質である；

(ii) 前記第 1 の構造中に表示されたアミノ酸残基の少なくとも 1 つを異なるアミノ酸残基と置換して、当該改変された抗体または抗体のフラグメントと前記標的生物活性脂質との修正された結合を含む第 2 の構造を具象化し、これによって、標的生物活性脂質に対して特異的に反応する抗体変異体または抗体フラグメント変異体を設計する工程と；

を含む、方法。