

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成28年6月16日 (2016.6.16)

【公表番号】特表2014-527408(P2014-527408A)

【公表日】平成26年10月16日 (2014.10.16)

【年通号数】公開・登録公報2014-057

【出願番号】特願2014-525261(P2014-525261)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 16/00

C 0 7 K 16/00 Z N A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

C 1 2 Q 1/68 Z

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 D

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/15 Z

【手続補正書】

【提出日】平成28年4月22日 (2016.4.22)

【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】

複数の異なるポリペプチドを含むポリペプチドライブラリーであって、  
前記ポリペプチドは、

i) SEQ ID NO: 3に記載のIGLV3 - 23の骨格領域に90%以上一致する骨格領域を含む重鎖抗体可変領域( $V_H$ )及び、

ii) SEQ ID NO: 18に記載のIGLV1 - 40、SEQ ID NO: 21に記載のIGLV1 - 44、SEQ ID NO: 24に記載のIGLV1 - 47、SEQ ID NO: 6に記載のIGLV3 - 1、SEQ ID NO: 27に記載のIGLV3 - 19、SEQ ID NO: 12に記載のIGLV6 - 57、のいずれか1の骨格領域に90%以上一致する骨格領域を含む軽鎖抗体可変領域( $V_L$ )、を含み、

前記 $V_H$ 及び前記 $V_L$ は、抗体結合を形成することができ、

前記ポリペプチドの2以上は、前記 $V_H$ 可変領域及び/又は前記 $V_L$ 可変領域中の1以上の相補性決定領域に存在するアミノ酸配列が互いに異なる、ポリペプチドライブラリー。

【請求項2】

前記 $V_H$ 可変領域及び/又は前記 $V_L$ 可変領域中の1以上の相補性決定領域のアミノ酸配列は、ランダム又はセミランダムであるか、又はヒト抗体に由来する、請求項1のライブラリー。

【請求項3】

ポリペプチドライブラリーを構成する方法であって、

前記方法は、複数の異なるポリペプチドを準備する工程を含み、

前記複数の異なるポリペプチドは、

i) SEQ ID NO: 3に記載のIGLV3 - 23の骨格領域に90%以上一致する骨格領域を含む重鎖抗体可変領域( $V_H$ )、及び、

ii) SEQ ID NO: 18に記載のIGLV1 - 40、SEQ ID NO: 21に記載のIGLV1 - 44、SEQ ID NO: 24に記載のIGLV1 - 47、SEQ ID NO: 6に記載のIGLV3 - 1、SEQ ID NO: 27に記載のIGLV3 - 19、SEQ ID NO: 12に記載のIGLV6 - 57、のいずれか1の骨格領域に90%以上一致する骨格領域を含む軽鎖抗体可変領域( $V_L$ )、を含み、

前記 $V_H$ 及び前記 $V_L$ は、抗体結合を形成することができ、

前記ポリペプチドの2以上は、前記 $V_H$ 可変領域及び/又は前記 $V_L$ 可変領域中の1以上の相補性決定領域に存在するアミノ酸配列が互いに異なる、ポリペプチドライブラリーを構成する方法。

【請求項4】

複数の異なるポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチドライブラリーであって、

各ポリヌクレオチドは、

i) SEQ ID NO: 3に記載のIGLV3 - 23の骨格領域に90%以上一致する骨格領域を含む重鎖抗体可変領域( $V_H$ )、及び、

ii) SEQ ID NO: 18に記載のIGLV1 - 40、SEQ ID NO: 21に記載のIGLV1 - 44、SEQ ID NO: 24に記載のIGLV1 - 47、SEQ ID NO: 6に記載のIGLV3 - 1、SEQ ID NO: 27に記載のIGLV3 - 19、SEQ ID NO: 12に記載のIGLV6 - 57、のいずれか1の骨格領域に90%以上一致する骨格領域を含む軽鎖抗体可変領域( $V_L$ )、を含むポリペプチドをコード化するものであり、

前記ポリヌクレオチドの2以上は、前記 $V_H$ 可変領域及び/又は前記 $V_L$ 可変領域中の1以上の異なる相補性決定領域を含むポリペプチドをコード化することによって互いに異なる、ポリヌクレオチドライブラリー。

【請求項5】

前記ポリヌクレオチドは、前記 $V_H$ 可変領域及び/又は前記 $V_L$ 可変領域の1以上の相補性決定領域のアミノ酸配列をコード化し、

前記アミノ酸配列は、ランダム又はセミランダムであるか、又はヒト抗体に由来する、請求項4のライブラリー。

【請求項6】

ポリヌクレオチドライブラリーを構成する方法であって、

前記方法は、ポリペプチドをコード化する複数の異なるポリヌクレオチドを準備する工程を含み、

前記ポリペプチドは、

i) SEQ ID NO: 3 に記載の IGLV3 - 23 の骨格領域に 90 % 以上一致する骨格領域を含む重鎖抗体可変領域 ( $V_H$ )、及び、

ii) SEQ ID NO: 18 に記載の IGLV1 - 40、SEQ ID NO: 21 に記載の IGLV1 - 44、SEQ ID NO: 24 に記載の IGLV1 - 47、SEQ ID NO: 6 に記載の IGLV3 - 1、SEQ ID NO: 27 に記載の IGLV3 - 19、SEQ ID NO: 12 に記載の IGLV6 - 57、のいずれか 1 の骨格領域に 90 % 以上一致する骨格領域を含む軽鎖抗体可変領域 ( $V_L$ )、を含み、

前記  $V_H$  及び前記  $V_L$  は、抗体結合を形成することができ、

前記ポリヌクレオチドの 2 以上は、前記  $V_H$  可変領域及び / 又は前記  $V_L$  可変領域中の 1 以上の異なる相補性決定領域を含むポリペプチドをコード化することによって互いに異なる、ポリペプチドライブラリーを構成する方法。

【請求項 7】

i) SEQ ID NO: 3 に記載の IGLV3 - 23 の骨格領域に 90 % 以上一致する骨格領域を含む重鎖抗体可変領域 ( $V_H$ )、及び、

ii) SEQ ID NO: 18 に記載の IGLV1 - 40、SEQ ID NO: 21 に記載の IGLV1 - 44、SEQ ID NO: 24 に記載の IGLV1 - 47、SEQ ID NO: 6 に記載の IGLV3 - 1、SEQ ID NO: 27 に記載の IGLV3 - 19、SEQ ID NO: 12 に記載の IGLV6 - 57、のいずれか 1 の骨格領域に 90 % 以上一致する骨格領域を含む軽鎖抗体可変領域 ( $V_L$ )、を含み、

前記  $V_H$  及び前記  $V_L$  は、抗体結合を形成することができる、単離及び / 又は組換ポリペプチド。

【請求項 8】

前記  $V_L$  は、SEQ ID NO: 6 に記載の IGLV3 - 1 の骨格領域に 90 % 以上一致する骨格領域を含む、請求項 7 のポリペプチド。

【請求項 9】

可変のフラグメント ( $F_v$ ) である、請求項 7 又は 8 のポリペプチド。

【請求項 10】

Fab フラグメント、Fab' フラグメント、F(ab') フラグメント、scFv、二重特異性抗体、三重特異性抗体、四重特異性抗体、又はより高次のポリペプチド複合体である、請求項 7 ~ 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 11】

前記ポリペプチドは、scFv であり、前記  $V_H$  及び前記  $V_L$  は、リンカーペプチドを通じて互いに結合している、請求項 10 のポリペプチド。

【請求項 12】

前記  $V_H$  可変領域及び前記  $V_L$  可変領域の骨格領域は、与えられたいずれかの配列の骨格領域に 95 % 以上、96 % 以上、97 % 以上、98 % 以上、又は 99 % 以上一致する、請求項 7 ~ 11 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 13】

還元条件下で溶解性である、請求項 7 ~ 12 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 14】

還元条件下で作製されたときに、溶解性であり、かつ抗体結合部を安定して形成することができる、請求項 7 ~ 13 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 15】

化合物に接合している、請求項 7 ~ 14 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 16】

前記化合物は、放射性同位体、検出可能な標識、治療化合物、コロイド、毒素、核酸、ペプチド、タンパク質、対象物中のポリペプチドの半減期を増加させる化合物、及びそれ

らの混合物からなる群より選択される、請求項 15 のポリペプチド。

【請求項 17】

請求項 7 ~ 16 のいずれか一項のポリペプチドをコード化する単離及び / 又は外因性ポリヌクレオチド、又は、それらの重鎖可変領域又は軽鎖可変領域。

【請求項 18】

請求項 17 のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 19】

請求項 7 ~ 16 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 17 のポリヌクレオチド、又は請求項 18 のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 20】

標的分子に結合するポリペプチドをスクリーニングする方法であって、

前記方法は、請求項 7 ~ 16 のいずれか一項のポリペプチド又は請求項 1、2、4 及び 5 のいずれか一項のライブラリーを標的分子に接触させる工程と、

請求項 7 ~ 16 のいずれか一項のポリペプチドが、標的分子に結合するかどうかを決定する工程と、を含む、標的分子に結合するポリペプチドをスクリーニングする方法。

【請求項 21】

請求項 7 ~ 16 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコード化するポリヌクレオチドは、宿主細胞中で発現されるか、又は、請求項 7 ~ 16 のいずれか一項のポリペプチドを作製するための無細胞発現系中で発現される、請求項 20 の方法。

【請求項 22】

前記ポリペプチドは、宿主細胞の細胞質及び / 又はペリプラズム中で発現される、請求項 21 の方法。

【請求項 23】

前記宿主細胞は、細菌細胞、酵母細胞、又は哺乳類細胞である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記宿主細胞は、細菌細胞であり、

前記方法は、

a) ポリペプチドが作製されるように、請求項 7 ~ 16 のいずれか一項のポリペプチドをコード化するポリヌクレオチドを含む細菌細胞を培養する工程と、

b) 細菌細胞を透過化する工程であって、前記ポリヌクレオチド及び前記ポリペプチドが、透過化した細菌細胞内に保持される工程と、

c) 標的分子が透過化した細菌細胞内で拡散するように、透過化した細菌細胞を標的分子に接触させる工程と、

d) 請求項 7 ~ 16 のいずれか一項のポリペプチドが標的分子に結合するかどうかを決定する工程と、を含む請求項 23 の方法。

【請求項 25】

前記無細胞発現系は、リボソームディスプレイシステム、mRNAディスプレイシステム、又はシスディスプレイシステムを含む、請求項 21 の方法。

【請求項 26】

複数の宿主細胞を含む宿主細胞ライブラリーであって、

前記複数の宿主細胞は、請求項 7 ~ 16 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含み、

1 以上の宿主細胞は、 $V_H$  可変領域及び / 又は  $V_L$  可変領域中の 1 以上の相補性決定領域に存在するアミノ酸配列のライブラリーにおいて、別の宿主細胞に存在するポリペプチドと異なるポリペプチドを含む、複数の宿主細胞を含む宿主細胞ライブラリー。

【請求項 27】

請求項 7 ~ 16 のいずれか一項のポリペプチド、請求項 17 のポリヌクレオチド、及び / 又は請求項 18 のベクター、並びに、薬学的に許容されるキャリア。

【請求項 28】

請求項 7 ~ 16 のいずれか一項のポリペプチド、請求項 17 のポリヌクレオチド、及び

／又は、請求項 18 のベクター、並びに、細菌細胞を透過処理することができる薬剤を含むキット。

【請求項 29】

治療器具又は診断器具における、請求項 7 ～ 16 のいずれか一項のポリペプチドの使用。