

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 4 年 1 月 6 日 (2022.1.6)

【公表番号】特表 2021-509010 (P2021-509010A)

【公表日】令和 3 年 3 月 18 日 (2021.3.18)

【年通号数】公開・登録公報 2021-014

【出願番号】特願 2020-530462 (P2020-530462)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 4 0 B 40/02 (2006.01)

C 4 0 B 50/06 (2006.01)

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/13 Z N A

C 1 2 N 15/12

C 1 2 Q 1/02

C 4 0 B 40/02

C 4 0 B 50/06

C 0 7 K 16/28

C 0 7 K 19/00

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 11 月 29 日 (2021.11.29)

【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】

結合剤を、それらの溶液中の溶解度および / または自己会合に対する耐性に従って区別またはランク付けし、および / または溶液中でより高い溶解度および / または自己会合に対するより高い耐性を呈する結合剤を富化する方法であって、

(i) 各々が結合剤をコードする D N A を含む高等真核細胞クローンのライブラリを提供することと、

(i i) 前記結合剤が前記細胞表面に提示される、前記結合剤の発現のための条件下で、前記クローンをインビトロで培養することと、

(i i i) 前記クローン上での前記結合剤の表面提示レベルを、任意選択で、検出可能な (例えば、蛍光) 標識が組み込まれた薬剤により前記結合剤を標識することにより決定することと、

(i v) 他のクローンと比較してより高い結合剤の表面提示を呈する 1 つ以上のクローンを選択することと、

(v) 前記 1 つ以上の選択されたクローンによりコードされる結合剤を、溶液中の溶解度および / または自己会合に対する耐性が良好であるものとして特定することと、任意選択で、前記選択されたクローンを、1 つ以上のさらなるスクリーニングステップに使用するために提供することと、を含む、方法。

【請求項 2】

前記クローン上での前記結合剤の表面提示レベルを、検出可能な（例えば、蛍光）標識が組み込まれた薬剤により前記結合剤を標識することにより決定することを含み、前記薬剤が前記結合剤の定常領域に結合し、任意選択で、前記結合剤がFc領域を含み、前記薬剤が前記Fc領域に結合する、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

細胞を、前記細胞上の結合剤の前記表面提示のレベルに従って、収集画分と廃棄画分とに選別し、それにより、所定の閾値を上回る表面提示を示す細胞が前記収集画分に選別され、前記所定の閾値を下回る表面提示を示す細胞が廃棄画分に選別される、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項 4】

廃棄画分が、少なくとも10mg/mlの臨界濃度を有する比較ポリペプチドを発現する細胞を含み、前記収集画分が、前記廃棄画分中の前記比較ポリペプチドよりも少なくとも1.5倍高い臨界濃度を有する結合剤を発現する細胞を含む、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

ステップ(i i)が、前記ライブラリの前記クローンを1つの容器内で混合物として培養することを含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ(i i)が、前記ライブラリの各クローンを別個の容器内で培養することを含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記結合剤が親結合剤の配列変異型である、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記親結合剤が、溶液中の溶解度または自己会合に対する耐性の改善が必要であると特定されている、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

前記方法が、前記親結合剤の配列変異型を生成することと、前記配列変異型をコードするDNAを高等真核細胞の細胞DNAに組み入れて、前記結合剤をコードするDNAを含む細胞クローンのライブラリを提供することと、を含む、

任意選択で、前記方法が、前記親の前記ポリペプチド配列を分析することと、自己会合を促進し、かつ/または溶解度を低下させることが予測される1つ以上のアミノ酸残基を特定することと、前記1つ以上のアミノ酸残基において変異を生成することと、を含む、請求項7または請求項8に記載の方法。

【請求項 10】

前記親結合剤が、リン酸緩衝生理食塩溶液(PBS)中50mg/ml未満の臨界濃度を有し、かつ/またはリン酸緩衝生理食塩溶液(PBS)中50mg/ml未満の溶解限度を有し、

かつ/または前記方法が、前記1つ以上の選択されたクローンによりコードされた結合剤を、前記親結合剤のものよりも少なくとも1.5倍高い臨界濃度および/もしくは溶解限度を有すると特定することを含む、請求項7～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

結合剤の親水性を、前記細胞クローン上のそれらの表面提示レベルに基づいて予測すること、および/または1つ以上の選択されたクローンの結合剤を、より親水性であると特定することを含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記結合剤をコードする前記DNAの発現が、強力なプロモーターの制御下にある、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記1つ以上の選択されたクローンから、前記結合剤をコードする前記DNAの配列を

決定することと、

前記結合剤をコードする単離された核酸を提供することと、を含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記 1 つ以上の選択されたクローンから、前記結合剤をコードする前記 D N A の配列を決定することと、

前記結合剤の可溶形態における分泌のための条件下、インビトロで、宿主細胞において、前記結合剤をコードする D N A を発現させることと、をさらに含む、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

薬学的に許容される賦形剤を含む組成物に前記結合剤を製剤化することを含む、請求項 1 4 に記載の方法。