

【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DNAを含む高等真核細胞クローニングライブラリを提供することと、

(ii) 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、前記クローニングライブラリをインビトロで培養することと、

(iii) 前記クローニングライブラリ上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、

(iv) 他のクローニングライブラリと比較してより高い結合剤の表面提示を呈する1つ以上のクローニングライブラリを選択することと、

(v) 前記1つ以上の選択されたクローニングライブラリ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ニングライブラリを、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 10 mg / 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) が、前記ライプ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) が、前記ライプ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プラリを提供することと、を含み、

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 50 mg / 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 50 mg / 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 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

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 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

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14 に記載の方法。