

【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29年11月16日(2017.11.16)

【公開番号】特開2017-169579(P2017-169579A)

【公開日】平成29年9月28日(2017.9.28)

【年通号数】公開・登録公報2017-037

【出願番号】特願2017-97126(P2017-97126)

【国際特許分類】

C 12 N 5/0781 (2010.01)

C 12 P 21/08 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 N 1/20 (2006.01)

【F I】

C 12 N 5/0781

C 12 P 21/08

C 12 N 15/00 A

C 12 N 1/20 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年10月5日(2017.10.5)

【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】

以下の段階を含む、標的抗原に結合する抗体を生成するための方法：

a) 個々の容器に単一細胞として置かれたB細胞集団の各B細胞を、フィーダー細胞、並びに、フィーダー混合物の存在下で共培養する段階であって、フィーダー細胞がマウスEL-4 B5細胞であり、そして、フィーダー混合物が(i)IL-1、TNF、およびIL-10、ならびに(ii)IL-21、SAC、BAFF、IL-2、IL-4、およびIL-6より選択される1つまたは複数を含む、段階、

b) 標的抗原に特異的に結合する抗体を産生するB細胞クローンを選択する段階、

c) 段階b)において選択されたB細胞クローンによって産生される抗体の可変軽鎖ドメインおよび可変重鎖ドメインをコードする核酸配列を逆転写PCRにより決定する段階、

d) 該抗体の可変軽鎖ドメインおよび可変重鎖ドメインをコードする核酸配列を含む核酸またはそのヒト化変種を細胞にトランスフェクトする段階、

e) 該核酸またはそのヒト化変種を含む細胞を培養し、細胞または培養上清から抗体を回収し、それによって抗体を生成する段階。

【請求項2】

单一細胞を置く前に、B細胞集団を共培養培地中でインキュベートする段階をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

インキュベーションする段階が約37度約1時間であることを特徴とする、請求項2記載の方法。

【請求項4】

共培養の前に、单一細胞として置かれたB細胞を遠心分離する段階をさらに含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 5】**

遠心分離が約300×gで約5分間行われることを特徴とする、請求項4記載の方法。

**【請求項 6】**

B細胞が成熟B細胞であることを特徴とする、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 7】**

B細胞がマウスB細胞またはハムスターB細胞またはウサギB細胞であることを特徴とする、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 8】**

共培養する段階が、10%(v/v) FCS、ペニシリンおよびストレプトマイシンを含む1%(w/v)の200 mMグルタミン溶液、2%(v/v)の100 mMピルビン酸ナトリウム溶液、ならびに1%(v/v)の1 M 2-(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジン)-エタンスルホンサン(HEPES)緩衝液を補充したRPMI 1640培地で行われることを特徴とする、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 9】**

フィーダー混合物が、IL-1、TNF、IL-2、IL-10、およびSACを含む、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 10】**

B細胞がマウスまたはハムスターB細胞であり、かつ、フィーダー混合物が、IL-1、TNF、IL-2、IL-10、およびIL-6を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 11】**

B細胞がハムスターB細胞であり、かつ、フィーダー混合物が、IL-1、IL-2、IL-10、TNF-、IL-6、およびSACを含む、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 12】**

B細胞がウサギB細胞であり、かつ、フィーダー混合物が、IL-1、TNF、IL-10、およびIL-6を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。