

【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5年7月4日(2023.7.4)

【国際公開番号】WO2020/264253  
 【公表番号】特表2022-538073(P2022-538073A)  
 【公表日】令和4年8月31日(2022.8.31)  
 【年通号数】公開公報(特許)2022-160  
 【出願番号】特願2021-576250(P2021-576250)  
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 5/10(2006.01)  
 C 1 2 Q 1/02(2006.01)  
 C 1 2 N 15/13(2006.01)  
 C 1 2 N 15/62(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/10 Z N A  
 C 1 2 Q 1/02  
 C 1 2 N 15/13  
 C 1 2 N 15/62 Z

20

【手続補正書】

【提出日】令和5年6月26日(2023.6.26)

【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】

少なくとも1つの目的の配列(SOI)を発現する標的化組込み(TI)宿主細胞のライブラリを生成及びハイスループット・スクリーニングするための方法であって、

30

a) 1つ又は複数のSOIを発現する複数のTI宿主細胞を含むTI宿主細胞の前記ライブラリを、

i) 複数のTI宿主細胞を提供すること、

ii) 前記複数のTI宿主細胞を、1つ又は複数のSOIを含む複数のベクターと接触させること、

iii) 前記1つ又は複数のSOIを前記複数のTI宿主細胞のうちの1つ又は複数の、NW\_006881296.1の配列と少なくとも約90%相同のゲノムの遺伝子座内に導入すること、によって生成することと、

b) 前記ライブラリを単一クローンに分離することと、

40

c) 特定の細胞又は産物属性について前記クローンをスクリーニングすることと、を含む、方法。

【請求項2】

前記1つ又は複数のSOIが、リコンビナーゼ媒介性組込み又は遺伝子編集媒介性組込みによって前記複数のTI宿主細胞のうちの1つ又は複数に導入される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記1つ又は複数のSOIが、1つ又は複数の調節可能なプロモーターに作用可能に連結されている、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

50

前記 T I 宿主細胞が哺乳動物宿主細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 S O I が、一本鎖抗体、抗体軽鎖、抗体重鎖、一本鎖 F v 断片 ( s c F v )、又は F c 融合タンパク質をコードする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記特定の細胞属性が、細胞増殖、細胞力価、比生産性、体積生産性、クローン安定性から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記特定の産物属性が、グリコシル化のレベル、電荷分散のレベル、ミスマッチの減少、タンパク質 / ペプチド凝集の減少、タンパク質配列不均一性から選択される、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 8】

少なくとも 1 つの目的の配列 ( S O I ) を発現する標的化組込み ( T I ) 宿主細胞のライブラリを生成及びハイスループット・スクリーニングするための方法であって、

a ) 1 つ又は複数の S O I を発現する複数の T I 宿主細胞を含む T I 宿主細胞の前記ライブラリを、

i ) 複数の T I 宿主細胞を提供すること、

i i ) 前記複数の T I 宿主細胞を、1 つ又は複数の S O I を含む複数のベクターと接触させること、

i i i ) 前記 1 つ又は複数の S O I を前記複数の T I 宿主細胞のうちの 1 つ又は複数の、  
N W 0 0 6 8 8 4 5 9 2 . 1 の配列と少なくとも約 9 0 % 相同のゲノムの遺伝子座内に  
導入すること、によって生成することと、

20

b ) 前記ライブラリを単一クローンに分離することと、

c ) 特定の細胞又は産物属性について前記クローンをスクリーニングすることと、を含む方法。

【請求項 9】

前記 1 つ又は複数の S O I が、リコンビナーゼ媒介性組込み又は遺伝子編集媒介性組込みによって前記複数の T I 宿主細胞のうちの 1 つ又は複数に導入される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 1 つ又は複数の S O I が、1 つ又は複数の調節可能なプロモーターに作用可能に連結されている、請求項 8 に記載の方法。

30

【請求項 11】

前記 T I 宿主細胞が哺乳動物宿主細胞である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

前記 S O I が、一本鎖抗体、抗体軽鎖、抗体重鎖、一本鎖 F v 断片 ( s c F v )、又は F c 融合タンパク質をコードする、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 13】

前記特定の細胞属性が、細胞増殖、細胞力価、比生産性、体積生産性、クローン安定性から選択される、請求項 8 に記載の方法。

40

【請求項 14】

前記特定の産物属性が、グリコシル化のレベル、電荷分散のレベル、ミスマッチの減少、タンパク質 / ペプチド凝集の減少、タンパク質配列不均一性から選択される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 15】

少なくとも 1 つの目的の配列 ( S O I ) を発現する標的化組込み ( T I ) 宿主細胞のライブラリを生成及びハイスループット・スクリーニングするための方法であって、

a ) 1 つ又は複数の S O I を発現する複数の T I 宿主細胞を含む T I 宿主細胞のライブラリを、

i ) 複数の T I 宿主細胞を提供すること、

50

i i) 前記複数の T I 宿主細胞を、1つ又は複数の S O I を含む複数のベクターと接触させること、

i i i) 前記1つ又は複数の S O I を前記複数の T I 宿主細胞のうちの1つ又は複数の、NW 006881296.1の配列と少なくとも約90%相同のゲノムの遺伝子座内に導入すること、によって生成することと、

b) 前記ライブラリを単一クローンに分離することと、

c) 特定の細胞又は産物属性について前記クローンをスクリーニングすることと、を含む方法。

【請求項16】

前記1つ又は複数の S O I が、リコンビナーゼ媒介性組込み又は遺伝子編集媒介性組込みによって前記複数の T I 宿主細胞のうちの1つ又は複数に導入される、請求項15に記載の方法。

10

【請求項17】

前記1つ又は複数の S O I が、1つ又は複数の調節可能なプロモーターに作用可能に連結されている、請求項15に記載の方法。

【請求項18】

前記 T I 宿主細胞が哺乳動物宿主細胞である、請求項15に記載の方法。

【請求項19】

前記 S O I が、一本鎖抗体、抗体軽鎖、抗体重鎖、一本鎖 F v 断片 ( s c F v )、又は F c 融合タンパク質をコードする、請求項15に記載の方法。

20

【請求項20】

前記特定の細胞属性が、細胞増殖、細胞力価、比生産性、体積生産性、クローン安定性から選択される、請求項15に記載の方法。

【請求項21】

前記特定の産物属性が、グリコシル化のレベル、電荷分散のレベル、ミスマッチの減少、タンパク質/ペプチド凝集の減少、タンパク質配列不均一性から選択される、請求項15に記載の方法。

【請求項22】

少なくとも1つの目的の配列 ( S O I ) を発現する標的化組込み ( T I ) 宿主細胞のライブラリを生成及びハイスループット・スクリーニングするための方法であって、

30

a) 1つ又は複数の S O I を発現する複数の T I 宿主細胞を含む T I 宿主細胞の前記ライブラリを、

i) 複数の T I 宿主細胞を提供すること、

i i) 前記複数の T I 宿主細胞を、1つ又は複数の S O I を含む複数のベクターと接触させること、

i i i) 前記1つ又は複数の S O I を前記複数の T I 宿主細胞のうちの1つ又は複数の、NW 003616412.1の配列と少なくとも約90%相同のゲノムの遺伝子座内に導入すること、によって生成することと、

b) 前記ライブラリを単一クローンに分離することと、

c) 特定の細胞又は産物属性について前記クローンをスクリーニングすることと、を含む、方法。

40

【請求項23】

前記1つ又は複数の S O I が、リコンビナーゼ媒介性組込み又は遺伝子編集媒介性組込みによって前記複数の T I 宿主細胞のうちの1つ又は複数に導入される、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

前記1つ又は複数の S O I が、1つ又は複数の調節可能なプロモーターに作用可能に連結されている、請求項22に記載の方法。

【請求項25】

前記 T I 宿主細胞が哺乳動物宿主細胞である、請求項22に記載の方法。

50

## 【請求項 26】

前記 S O I が、一本鎖抗体、抗体軽鎖、抗体重鎖、一本鎖 F v 断片 ( s c F v )、又は F c 融合タンパク質をコードする、請求項 22 に記載の方法。

## 【請求項 27】

前記特定の細胞属性が、細胞増殖、細胞力価、比生産性、体積生産性、クローン安定性から選択される、請求項 22 に記載の方法。

## 【請求項 28】

前記特定の産物属性が、グリコシル化のレベル、電荷分散のレベル、ミスマッチの減少、タンパク質/ペプチド凝集の減少、タンパク質配列不均一性から選択される、請求項 22 に記載の方法。

## 【請求項 29】

少なくとも 1 つの目的の配列 ( S O I ) を発現する標的化組込み ( T I ) 宿主細胞のライブラリを生成及びハイスループット・スクリーニングするための方法であって、

a) 1 つ又は複数の S O I を発現する複数の T I 宿主細胞を含む T I 宿主細胞の前記ライブラリを、

i) 複数の T I 宿主細胞を提供すること、

ii) 前記複数の T I 宿主細胞を、1 つ又は複数の S O I を含む複数のベクターと接触させること、

iii) 前記 1 つ又は複数の S O I を前記複数の T I 宿主細胞のうちの 1 つ又は複数の、NW 003615063 . 1 の配列と少なくとも約 90 % 相同のゲノムの遺伝子座内に導入すること、によって生成すること、

b) 前記ライブラリを単一クローンに分離すること、

c) 特定の細胞又は産物属性について前記クローンをスクリーニングすること、を含む、方法。

## 【請求項 30】

前記 1 つ又は複数の S O I が、リコンビナーゼ媒介性組込み又は遺伝子編集媒介性組込みによって前記複数の T I 宿主細胞のうちの 1 つ又は複数に導入される、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 31】

前記 1 つ又は複数の S O I が、1 つ又は複数の調節可能なプロモーターに作用可能に連結されている、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 32】

前記 T I 宿主細胞が哺乳動物宿主細胞である、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 33】

前記 S O I が、一本鎖抗体、抗体軽鎖、抗体重鎖、一本鎖 F v 断片 ( s c F v )、又は F c 融合タンパク質をコードする、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 34】

前記特定の細胞属性が、細胞増殖、細胞力価、比生産性、体積生産性、クローン安定性から選択される、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 35】

前記特定の産物属性が、グリコシル化のレベル、電荷分散のレベル、ミスマッチの減少、タンパク質/ペプチド凝集の減少、タンパク質配列不均一性から選択される、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 36】

少なくとも 1 つの目的の配列 ( S O I ) を発現する標的化組込み ( T I ) 宿主細胞のライブラリを生成及びハイスループット・スクリーニングするための方法であって、

a) 1 つ又は複数の S O I を発現する複数の T I 宿主細胞を含む T I 宿主細胞の前記ライブラリを、

i) 複数の T I 宿主細胞を提供すること、

ii) 前記複数の T I 宿主細胞を、1 つ又は複数の S O I を含む複数のベクターと接

10

20

30

40

50

触させること、

iii) 前記1つ又は複数のSOIを前記複数のTI宿主細胞のうちの1つ又は複数の、NW 006882936.1の配列と少なくとも約90%相同のゲノムの遺伝子座内に導入すること、によって生成すること、

b) 前記ライブラリを単一クローンに分離することと、

c) 特定の細胞又は産物属性について前記クローンをスクリーニングすることと、を含む、方法。

【請求項37】

前記1つ又は複数のSOIが、リコンビナーゼ媒介性組込み又は遺伝子編集媒介性組込みによって前記複数のTI宿主細胞のうちの1つ又は複数に導入される、請求項36に記載の方法。

【請求項38】

前記1つ又は複数のSOIが、1つ又は複数の調節可能なプロモーターに作用可能に連結されている、請求項36に記載の方法。

【請求項39】

前記TI宿主細胞が哺乳動物宿主細胞である、請求項36に記載の方法。

【請求項40】

前記SOIが、一本鎖抗体、抗体軽鎖、抗体重鎖、一本鎖Fv断片(scFv)、又はFc融合タンパク質をコードする、請求項36に記載の方法。

【請求項41】

前記特定の細胞属性が、細胞増殖、細胞力価、比生産性、体積生産性、クローン安定性から選択される、請求項36に記載の方法。

【請求項42】

前記特定の産物属性が、グリコシル化のレベル、電荷分散のレベル、ミスマッチの減少、タンパク質/ペプチド凝集の減少、タンパク質配列不均一性から選択される、請求項36に記載の方法。

【請求項43】

少なくとも1つの目的の配列(SOI)を発現する標的化組込み(TI)宿主細胞のライブラリを生成及びハイスループット・スクリーニングするための方法であって、

a) 1つ又は複数のSOIを発現する複数のTI宿主細胞を含むTI宿主細胞の前記ライブラリを、

i) 複数のTI宿主細胞を提供すること、

ii) 前記複数のTI宿主細胞を、1つ又は複数のSOIを含む複数のベクターと接触させること、

iii) 前記1つ又は複数のSOIを前記複数のTI宿主細胞のうちの1つ又は複数の、NW 003615411.1の配列と少なくとも約90%相同のゲノムの遺伝子座内に導入すること、によって生成すること、

b) 前記ライブラリを単一クローンに分離することと、

c) 特定の細胞又は産物属性について前記クローンをスクリーニングすることと、を含む、方法。

【請求項44】

前記1つ又は複数のSOIが、リコンビナーゼ媒介性組込み又は遺伝子編集媒介性組込みによって前記複数のTI宿主細胞のうちの1つ又は複数に導入される、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

前記1つ又は複数のSOIが、1つ又は複数の調節可能なプロモーターに作用可能に連結されている、請求項43に記載の方法。

【請求項46】

前記TI宿主細胞が哺乳動物宿主細胞である、請求項43に記載の方法。

【請求項47】

10

20

30

40

50

前記 S O I が、一本鎖抗体、抗体軽鎖、抗体重鎖、一本鎖 F v 断片 ( s c F v )、又は F c 融合タンパク質をコードする、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記特定の細胞属性が、細胞増殖、細胞力価、比生産性、体積生産性、クローン安定性から選択される、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記特定の産物属性が、グリコシル化のレベル、電荷分散のレベル、ミスマッチの減少、タンパク質/ペプチド凝集の減少、タンパク質配列不均一性から選択される、請求項 4 3 に記載の方法。

10

20

30

40

50