

【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 1 年 12 月 26 日 (2019.12.26)

【公開番号】特開 2019-195335 (P2019-195335A)

【公開日】令和 1 年 11 月 14 日 (2019.11.14)

【年通号数】公開・登録公報 2019-046

【出願番号】特願 2019-128863 (P2019-128863)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/13 Z N A

C 1 2 P 21/08

C 0 7 K 16/00

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 10 月 11 日 (2019.10.11)

【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】

抗原に特異的に結合する免疫グロブリンの重鎖または軽鎖のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を得る方法であって、

(a) 少なくとも 1 つの動物の免疫グロブリン鎖またはその可変領域をコードする核酸配列を準備するステップ；

(b) 抗原に特異的に結合するポリクローナル免疫グロブリンの集団を得、そして該集団の重鎖または軽鎖、またはその可変領域のペプチド断片の質量スペクトル情報を得るステップ；

(c) ペプチド断片の質量スペクトル情報を、核酸配列からの予測質量スペクトル情報、該核酸配列によってコードされる予測アミノ酸配列から導き出された該予測質量スペクトル情報と関連づけてペプチド断片を含む免疫グロブリン鎖（またはその可変領域）のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を同定するステップ；および

(d) ペプチド断片による免疫グロブリン鎖またはその断片のアミノ酸配列包括度に基づいて、免疫グロブリン鎖（またはその可変領域）の同定されたヌクレオチド配列またはアミノ酸配列から選択して抗原に特異的に結合する免疫グロブリンの重鎖または軽鎖のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を得るステップ；

を含む方法。

【請求項 2】

核酸配列が発現された核酸配列である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

予測質量スペクトル情報が、

(i) 1 つ又はそれ以上のプロテアーゼおよび / または 1 つ又はそれ以上の化学的タンパク質切断試薬を用いて、核酸配列のヌクレオチド配列によってコードされた予測されたアミノ酸配列の理論的消化を行って仮想ペプチド断片を生成するステップ；および

(i i) 該仮想ペプチド断片の予測質量スペクトルを作製するステップ；

を含む方法を用いて得られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

ステップ (b) の免疫グロブリンの前記ポリクローナル集団が動物の体液サンプルまたはその画分から得られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

動物がステップ (a) における前記少なくとも 1 つの動物と同じである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記体液サンプルまたはその画分から、ステップ (b) の免疫グロブリンの前記ポリクローナル集団を精製し、任意に、プロテイン A またはプロテイン G 精製または抗原に基づくアフィニティー精製によって精製を実施する、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

1 つまたはそれ以上のプロテアーゼおよび / または 1 つまたはそれ以上の化学的タンパク質切断試薬を用いて集団を消化して断片を生成し、そして生成された断片を質量分析にかけることによって、免疫グロブリンのポリクローナル集団から、ステップ (b) のペプチド断片の質量スペクトル情報が得られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

ステップ (d) における選択が、(i) ペプチド断片による免疫グロブリンの CDR3 配列のアミノ酸配列包括度；(ii) ペプチド断片による免疫グロブリンの可変領域のアミノ酸配列包括度；または (i) 及び (ii) に基づく、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

ステップ (d) における選択が、マップされたユニークペプチドの数、スペクトル共用、総ペプチド計数、ユニークペプチド計数、コード核酸配列の頻度、およびクローン関連性からなる群から選択される少なくとも 1 つのパラメーターにさらに基づく、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

抗原に特異的に結合する免疫グロブリンを作製する方法であって、

請求項 1 の方法を用いて重鎖および軽鎖のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を得るステップ、

得られたヌクレオチド配列またはアミノ酸配列に基づいて、組換え分子生物学的手法または遺伝子合成手法によって該重鎖および該軽鎖を作るステップ、ならびに

該重鎖を該軽鎖とアセンブリングして抗原に特異的に結合する免疫グロブリンを作製するステップ、
を含む方法。

【請求項 11】

抗原に特異的に結合する免疫グロブリンの免疫グロブリン鎖可変領域のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を得る方法であって、

(a) 少なくとも 1 つの動物の多数の免疫グロブリンの免疫グロブリン可変領域をコードする核酸配列を準備するステップ；

(b) 抗原に特異的に結合するポリクローナル免疫グロブリンの集団の免疫グロブリン鎖可変領域のペプチド断片の質量スペクトル情報を得るステップ；

(c) ペプチド断片の質量スペクトル情報を、核酸配列の予測質量スペクトル情報、該核酸配列によってコードされる予測アミノ酸配列から導き出された該予測質量スペクトル情報と関連づけて、ペプチド断片を含む免疫グロブリン鎖可変領域のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を同定するステップ；および

(d) ペプチド断片による可変領域のアミノ酸配列包括度に基づいて、免疫グロブリン鎖可変領域の同定されたヌクレオチド配列またはアミノ酸配列から選択して抗原に特異的に結合する免疫グロブリンの可変領域のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を得るステップ；

を含む方法。

【請求項 12】

(e) ステップ (d) において得られたヌクレオチド配列またはアミノ酸配列に基づいて、組換え分子生物学的手法または遺伝子合成手法によって免疫グロブリン鎖可変領域を作るステップ、
をさらに含む、請求項 11 に記載の方法。