【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28年2月4日(2016.2.4)

【公表番号】特表2015-522286(P2015-522286A)
【公表日】平成27年8月6日(2015.8.6)
【年通号数】公開・登録公報2015-050
【出願番号】特願2015-522101(P2015-522101)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｑ　1/02　(2006.01)
Ｃ４０Ｂ　40/08　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　5/10　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　16/46　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　16/24　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｑ　1/02
Ｃ４０Ｂ　40/08　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　5/00　１０２
Ｃ０７Ｋ　16/46
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ０７Ｋ　16/24

【手続補正書】
【提出日】平成27年12月11日(2015.12.11)
【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】
所望の結合特異性または機能を有するポリペプチドを同定するための方法であって、
（ｉ）種々の結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしている、ポリヌクレオチドの多様なコレクションを生成すること、ここで前記ポリヌクレオチドは、少なくとも１種のトランスポサーゼ酵素によって認識され、かつ、これと機能する第一の逆方向末端反復配列と第二の逆方向末端反復配列の間に配置されている、ポリペプチドをコードしている配列を含み；
（ｉｉ）（ｉ）のポリヌクレオチドの多様なコレクションを宿主細胞に導入すること；
（ｉｉｉ）前記ポリヌクレオチドの多様なコレクションが宿主細胞のゲノムに組み込まれ、種々の結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしている前記ポリヌクレオチドの多様なコレクションを発現する宿主細胞の集団が生じるように、前記逆方向末端反復配列と機能する少なくとも１種のトランスポサーゼ酵素を前記宿主細胞中で発現させること；
（ｉｖ）所望の結合特異性または機能を有するポリペプチドを発現している宿主細胞を同定するために前記宿主細胞をスクリーニングすること；および
（ｖ）前記宿主細胞から、前記ポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド配列を単離すること、
を含む、方法。
【請求項２】

前記ポリヌクレオチドが、プラスミドベクターまたは二本鎖ＤＮＡのＰＣＲ増幅産物である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記ポリヌクレオチドが、
ａ）受容体のリガンド結合配列または結合分子の標的結合配列、
ｂ）抗体の抗原結合配列、
ｃ）抗体のV_HもしくはV_L領域、またはその抗原結合断片をコードしている配列、
ｄ）抗体のV_H領域と抗体のV_L領域をコードしている配列、
ｅ）完全長の免疫グロブリン重鎖もしくは軽鎖、またはその抗原結合断片をコードしている配列、および／または
ｆ）一本鎖のＦｖまたはＦａｂドメインをコードしている配列、
を含む、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記ポリヌクレオチドの多様なコレクションを生成することが、Ｖ領域の遺伝子配列を突然変異誘発条件下におけるＰＣＲにかけることを含む、請求項１～３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５】
工程（ｉｉ）が、
ａ）別々のベクターにコードされている、免疫グロブリンのV_HもしくはV_L領域、またはその抗原結合断片、および／または
ｂ）別々のベクター上にある、完全長の免疫グロブリン重鎖もしくは軽鎖、またはその抗原結合断片、
ｃ）抗体のV_H鎖およびV_L鎖をコードしている配列を含んでいるベクター、
ｄ）完全長の免疫グロブリン重鎖および完全長の免疫グロブリン軽鎖をコードしている配列を含んでいるベクター、
をコードしている配列を含んでいるポリヌクレオチドを前記宿主細胞に導入することを含む、請求項１～４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
前記発現させる工程（ｉｉｉ）が、少なくとも１種の逆方向末端反復配列を認識し、かつ、これと機能するトランスポサーゼ酵素をコードしている発現ベクターを前記宿主細胞に導入することを含み、ここで前記トランスポサーゼ酵素が前記宿主細胞中で一過的に発現される、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
前記スクリーニングする工程（ｉｖ）が、磁気活性化セルソーティング（ＭＡＣＳ）、蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）、固相表面に固定した分子に対するパニング、細胞性の、天然または人工的に再構成した脂質二重膜に組み込まれた細胞膜関連分子への結合に関する選抜、またはマルチウェルフォーマットでの、所望の機能または結合表現型に関する個々の細胞のクローンの高処理スクリーニングを含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
所望の結合特異性または機能を有しているポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド配列単離する前記工程（ｖ）が、ゲノムＰＣＲ増幅もしくはＲＴ－ＰＣＲ増幅または次世代ディープシークエンシングを含む、請求項１～７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９】
ａ）前記逆方向末端反復配列がピギーバックのトランスポゾン系またはスリーピングビューティーのトランスポゾン系に由来するものであり、および／または
ｂ）工程（ｉｉｉ）が、機能性のピギーバックトランスポサーゼまたはスリーピングビューティートランスポサーゼをコードしている配列を含んでいるベクターを前記宿主細胞に導入することを含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０】

前記逆方向末端反復配列が、ピギーバック（ＰｉｇｇｙＢａｃ）、スリーピングビューティー（Ｓｌｅｅｐｉｎｇ　Ｂｅａｕｔｙ）、フロッグプリンス（Ｆｒｏｇ　Ｐｒｉｎｃｅ）、ハイマー１（Ｈｉｍａｒ１）、パスポート（Ｐａｓｓｐｏｒｔ）、ミノス（Ｍｉｎｏｓ）、ｈＡＴ、トール１（Ｔｏｌ１）、トール２（Ｔｏｌ２）、Ａｃ／Ｄｓ、ＰＩＦ、ハービンジャー（Ｈａｒｂｉｎｇｅｒ）、ハービンジャー３－ＤＲ（Ｈａｒｂｉｎｇｅｒ３－ＤＲ）、およびＨｓｍａｒ１からなる群より選択される少なくとも１種のトランスポサーゼによって認識され、かつ、これと機能する、請求項１～９のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１１】

複数のポリヌクレオチド分子を含んでおり、種々の結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド分子のライブラリーであって、前記ポリヌクレオチド分子が、少なくとも１種のトランスポサーゼ酵素によって認識され、かつ、これと機能する逆方向末端反復配列の間に配置されている、結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしている配列を含む、ライブラリー。

【請求項１２】

前記ポリヌクレオチド分子が、プラスミドまたは二本鎖ＤＮＡのＰＣＲ増幅産物である、請求項１１に記載のライブラリー。

【請求項１３】

前記ポリヌクレオチドが、

ａ）抗体の抗原結合配列をコードしている少なくとも１つの配列、

ｂ）抗体のV_HもしくはV_L領域またはその抗原結合断片をコードしている配列、

ｃ）抗体のV_H領域と抗体のV_L領域をコードしている配列、

ｄ）完全長の免疫グロブリン重鎖もしくは軽鎖、またはその抗原結合断片をコードしている配列、

ｅ）一本鎖のＦｖまたはＦａｂドメインをコードしている配列、

を含む、請求項１１又は１２に記載のライブラリー。

【請求項１４】

前記プラスミドまたは二本鎖ＤＮＡのＰＣＲ増幅産物が、逆方向末端反復配列を認識し、かつ、これと機能するトランスポサーゼ酵素をコードしている配列をさらに含む、請求項１１～１３のいずれか１項に記載のライブラリー。

【請求項１５】

種々の結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしている配列を含んでいるポリヌクレオチドの多様なコレクションを生成することを含む、種々の結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしている転位性ポリヌクレオチドのライブラリーを生成するための方法であって、ここで前記ポリヌクレオチドは、少なくとも１種のトランスポサーゼ酵素によって認識され、かつ、これと機能する逆方向末端反復配列の間に配置されている、結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしている配列を含む、方法。

【請求項１６】

少なくとも１種のトランスポサーゼ酵素によって認識され、かつ、これと機能する逆方向末端反復配列の間に配置されている、抗体のV_HもしくはV_L領域またはその抗原結合部分をコードしている配列を含んでいるベクター。

【請求項１７】

請求項１６に記載のベクターを含んでいる宿主細胞。

【請求項１８】

種々の結合特異性または機能を有するポリペプチドを発現することが可能な宿主細胞の集団を生成するための方法であって、

（ｉ）種々の結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしている配列を含んでいるポリヌクレオチドの多様なコレクションを生成すること、ここで前記ポリヌクレオチドは、少なくとも１種のトランスポサーゼ酵素によって認識され、かつ、これと機能する

逆方向末端反復配列の間に配置されている、結合特異性または機能を有するポリペプチドをコードしている配列を含み；および
（ｉｉ）前記ポリヌクレオチドの多様なコレクションを宿主細胞に導入すること、
を含む方法。
【請求項１９】
V_H配列を含んでいるベクターが、V_L配列を含んでいるベクターに含まれている逆方向末端反復配列を認識するものとは別のトランスポサーゼ酵素によって認識される逆方向末端反復配列を含む、請求項５～１０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２０】
V_H配列を含んでいるベクターが、V_L配列を含んでいるベクターに含まれている逆方向末端反復配列を認識するものとは別のトランスポサーゼ酵素によって認識される逆方向末端反復配列を含む、請求項１６に記載のベクター。
【請求項２１】
宿主細胞が脊椎動物の細胞である、請求項１～１０、１５、１８及び１９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２２】
宿主細胞が、哺乳類の細胞、ヒトまたは齧歯類の細胞、リンパ細胞、Ｂ細胞、プロ（ｐｒｏｇｅｎｉｔｏｒ）Ｂ細胞またはプレ（ｐｒｅｃｕｒｓｏｒ）Ｂ細胞である、請求項１～１０、１５、１８及び１９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２３】
宿主細胞が、エーベルソン－マウス白血病ウイルスで形質転換したプロＢ細胞またはプレＢ細胞、または初期免疫グロブリン－ヌルＥＢＶで形質転換したヒトプロＢ細胞およびプレＢ細胞である、請求項１～１０、１５、１８及び１９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２４】
宿主細胞が脊椎動物の細胞である、請求項１７に記載の宿主細胞。
【請求項２５】
宿主細胞が哺乳類の細胞、ヒトまたは齧歯類の細胞、リンパ細胞、Ｂ細胞、プロ（ｐｒｏｇｅｎｉｔｏｒ）Ｂ細胞またはプレ（ｐｒｅｃｕｒｓｏｒ）Ｂ細胞である、請求項１７に記載の宿主細胞。
【請求項２６】
宿主細胞が、エーベルソン－マウス白血病ウイルスで形質転換したプロＢ細胞またはプレＢ細胞、または初期免疫グロブリン－ヌルＥＢＶで形質転換したヒトプロＢ細胞およびプレＢ細胞である、請求項１７に記載の宿主細胞。