

【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23年4月28日(2011.4.28)

【公表番号】特表2009-528828(P2009-528828A)

【公表日】平成21年8月13日(2009.8.13)

【年通号数】公開・登録公報2009-032

【出願番号】特願2008-557594(P2008-557594)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 16/08 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 16/08

C 1 2 N 5/00 B

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

A 6 1 K 39/395 D

【手続補正書】

【提出日】平成22年3月5日(2010.3.5)

【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】

R S V サブタイプ A および B を中和することができる抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体であって、前記ポリクローナル抗体が、少なくとも 1 種の R S V 外被タンパク質における少なくとも 3 種の異なるエピトープと一緒に特異的に結合する別個の抗体メンバーを含む、抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 2】

前記ポリクローナル抗体が、少なくとも 2 種の R S V 外被タンパク質に対する特異的な反応性を一緒に提供する別個の抗体メンバーを含む、請求項 1 記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 3】

R S V 外被タンパク質が、R S V G タンパク質、R S V F タンパク質および R S V S H タンパク質から選択される、請求項 1 または 2 記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 4】

抗 - 外被タンパク質の反応性が抗 - G および抗 - F 反応性であり、前記反応性が少なくとも 2 種の別個の抗 - G 抗体および少なくとも 1 種の別個の抗 - F 抗体により提供される

、請求項 1 から 3 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 5】

第 1 の抗 - G 抗体が、G - タンパク質における保存されたエピトープに特異的に結合でき、第 2 の抗 - G 抗体が、G - タンパク質システインリッチドメイン (G C R R) に特異的に結合でき、ならびに F - 反応性が、抗原部位 I、I I、I V、V、V I、C、または F 1 のうちの少なくとも 1 つに対して指向性である、請求項 4 記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 6】

少なくとも抗 - G 反応性の一部が C X 3 C モチーフに対して指向性である、請求項 4 または 5 記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 7】

抗 - G 反応性が、さらに少なくとも 1 種の株特異的なエピトープに対して指向性である、請求項 4 から 6 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 8】

抗 - F 反応性が、少なくとも抗原部位 I I および抗原部位 I V に対して指向性である、請求項 4 から 7 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 9】

抗 - 外被タンパク質の反応性が、請求項 4 から 8 に対して、または関して指向性であって、さらに S H タンパク質に対して指向性である、請求項 1 から 8 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 10】

別個の抗体メンバーの組成物が、ドナーにおける R S V 外被抗原に対する多様性、親和性および特異性に関する液性免疫応答を反映する、請求項 1 から 9 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 11】

請求項 1 から 10 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体であって、別個の抗体が、R S V に対する液性免疫応答を上げた一人またはそれ以上のヒトドナーから得られた核酸配列によりコードされ、前記ポリクローナル抗体が、十分にヒト抗体であるポリクローナル抗体。

【請求項 12】

別個の抗体メンバーが、ドナーに元々存在する V_H および V_L のペアーから構成される、請求項 10 または 11 記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 13】

別個のメンバーが各々、表 5 に示される V_H および V_L のペアーの群から選択される C D R 1、C D R 2 および C D R 3 領域を含む、請求項 1 から 12 のうちのいずれか記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体。

【請求項 14】

請求項 1 から 13 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体および医薬上許容される賦形剤を活性成分として含む、医薬組成物。

【請求項 15】

哺乳動物において R S V 感染に関連する 1 つまたはそれ以上の症状を予防、治療または改善するための医薬組成物であって、請求項 1 から 13 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体の有効量を含む組成物。

【請求項 16】

有効量が、体重 k g あたり抗体 100 m g またはそれ以下であり、例えば、体重 k g あたり抗体 90 m g またはそれ以下、80 m g またはそれ以下、70 m g またはそれ以下、60 m g またはそれ以下、50 m g またはそれ以下、40 m g またはそれ以下、30 m g またはそれ以下、20 m g またはそれ以下、10 m g またはそれ以下、9 m g またはそれ以下、8 m g またはそれ以下、7 m g またはそれ以下、6 m g またはそれ以下、5 m g またはそれ以下、4 m g またはそれ以下、3 m g またはそれ以下、2 m g またはそれ以下、

1 m g またはそれ以下、0.9 m g またはそれ以下、0.8 m g またはそれ以下、0.7 m g またはそれ以下、0.6 m g またはそれ以下、0.5 m g またはそれ以下、0.4 m g またはそれ以下、0.3 m g またはそれ以下、0.2 m g またはそれ以下および 0.1 m g またはそれ以下である、請求項 15 記載の医薬組成物。

【請求項 17】

有効量が、少なくとも体重 k g あたり抗体 0.01 m g であり、例えば、少なくとも 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 m g である、請求項 15 記載の医薬組成物。

【請求項 18】

有効量が、体重 k g あたり抗体 0.1 ~ 20 m g の間である、請求項 15 記載の医薬組成物。

【請求項 19】

年間あたり少なくとも 1 回投与され、例えば、年間あたり 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 回で投与される、請求項 15 ~ 18 のうちのいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

R S V 感染を誘引するリスクの高い年の間に一定間隔で投与される、請求項 19 記載の医薬組成物。

【請求項 21】

一定間隔が、1 週間、2 週間、1 ヶ月間、または 2 ヶ月間である、請求項 20 記載の医薬組成物。

【請求項 22】

哺乳動物における R S V 感染に関連した 1 つまたはそれ以上の症状の治療、改善または予防のための組成物の調製のための請求項 1 から 13 のうちのいずれか 1 項記載の抗 - R S V 組み換えポリクローナル抗体または請求項 14 記載の医薬組成物の使用。

【請求項 23】

V_H および V_L をコードするペアー (p a i r s) のレパートリーを作成する方法であって、メンバーが、R S V 感染から生じる液性免疫応答に関連する遺伝子のペアーを反映するものであって、

a. R S V に感染したドナーまたは R S V 感染から回復したドナーからリンパ球を含む細胞画分を提供し；

b. 任意選択的に、前記細胞画分から B 細胞または血漿細胞を濃縮し；

c. 前記細胞画分由来の細胞を複数の容器に個々に分配することを含む、単離された単一細胞の集団を得て；次いで

d. 前記単離された単一細胞に由来する鋳型を用いて、重複伸長 (o v e r l a p e x t e n s i o n) R T - P C R 法において、増幅させ、V_H および V_L をコードするペアーの連結を生じさせ；

e. 任意選択的に、連結した V_H および V_L をコードするペアーのネスティド (n e s t e d) P C R を実施すること；

を含む方法。

【請求項 24】

請求項 1 から 13 のうちのいずれか 1 項記載の組み換えポリクローナル抗 - R S V 抗体を発現することができる、ポリクローナル細胞株。

【請求項 25】

個々の細胞が各々、単一の V_H および V_L をコードするペアーを発現することができ、全体としてポリクローナル細胞株が V_H および V_L をコードするペアーのコレクションを発現することができ、各 V_H および V_L をコードするペアーが、抗 - R S V 抗体をコードする、ポリクローナル細胞株。

【請求項 26】

前記 V_H および V_L をコードするペアーのコレクションが、請求項 23 の方法により作

成される、請求項 25 記載のポリクローナル細胞株。

【請求項 27】

本明細書の表 5 に記載される抗体分子、あるいは前記抗体分子の特異的に結合するフラグメントまたは合成もしくは半合成抗体アナログから選択される単離ヒト抗 R S V - 抗体分子であって、前記結合するフラグメントまたはアナログが、少なくとも前記単離抗体分子の相補性決定領域 (C D R) を含む単離ヒト抗 R S V - 抗体分子。

【請求項 28】

表 8 に記載された抗体に由来するか、あるいは配列番号： 1 ~ 44 のうちの 1 つに含まれる重鎖 C D R アミノ酸配列および配列番号： 1 ~ 44 から選択されるアミノ酸配列より 88 高い配列番号を有する付随の軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む、請求項 27 記載の抗体分子、フラグメントまたはアナログ。

【請求項 29】

本明細書の表 6 または 7 に記載される抗体に由来する、請求項 27 記載の抗体分子、フラグメントまたはアナログ。

【請求項 30】

本明細書の表 6 または 7 に記載される抗体である、請求項 27 記載の抗体分子、フラグメントまたはアナログ。

【請求項 31】

ヒト抗体由来の F a b における C D R と同一である C D R を含み、前記 F a b は、物質輸送時の制限を避けるために非常に低い密度でセンサー表面上に固定された組み換え R S V G タンパク質を用いて、B i a c o r e 3000 において表面プラズモン共鳴分析を実施して測定する場合、500 n M またはそれ以下の R S V G タンパク質に対する解離定数 K_D を示す、単離された抗体分子、抗体フラグメントまたは合成もしくは半合成抗体アナログ。

【請求項 32】

K_D が、400 n M またはそれ以下であり、例えば、300 n M またはそれ以下、200 n M またはそれ以下、100 n M またはそれ以下、1 n M またはそれ以下であり、900 p M またはそれ以下、800 p M またはそれ以下、700 p M またはそれ以下、600 p M またはそれ以下、500 p M またはそれ以下、400 p M またはそれ以下、300 p M またはそれ以下、200 p M またはそれ以下、100 p M またはそれ以下、90 p M またはそれ以下、および 80 p M またはそれ以下である、請求項 31 記載の単離された抗体分子、抗体フラグメントまたは合成もしくは半合成抗体アナログ。

【請求項 33】

ヒト抗体由来の F a b における抗原結合部位に同一である抗原結合部位を含み、前記 F a b は、物質輸送時の制限を避けるために非常に低い密度でセンサー表面上に固定された組み換え R S V G タンパク質を用いて、B i a c o r e 3000 において表面プラズモン共鳴分析を実施して測定する場合、500 n M またはそれ以下の R S V F タンパク質に対する解離定数 K_D を示す、単離された抗体分子、抗体フラグメントまたは合成もしくは半合成抗体アナログ。

【請求項 34】

K_D が、400 n M またはそれ以下であり、例えば、300 n M またはそれ以下、200 n M またはそれ以下、100 n M またはそれ以下、1 n M またはそれ以下であり、900 p M またはそれ以下、800 p M またはそれ以下、700 p M またはそれ以下、600 p M またはそれ以下、500 p M またはそれ以下、400 p M またはそれ以下、300 p M またはそれ以下、200 p M またはそれ以下、100 p M またはそれ以下、90 p M またはそれ以下、80 p M またはそれ以下、70 p M またはそれ以下、60 p M またはそれ以下、50 p M またはそれ以下、40 p M またはそれ以下、30 p M またはそれ以下、25 p M またはそれ以下、20 p M またはそれ以下、15 p M またはそれ以下、10 p M またはそれ以下、9 p M またはそれ以下、8 p M またはそれ以下、7 p M またはそれ以下、6 p M またはそれ以下、および 5 p M またはそれ以下である、請求項 33 記載の単離され

た抗体分子、抗体フラグメントまたは合成もしくは半合成抗体アナログ。

【請求項 35】

クローン番号 810、818、819、824、825、827、858 または 894 で産生されるヒト抗体の CDR を含む、請求項 27 ~ 34 のうちのいずれか 1 項記載の抗体分子あるいは特異的に結合するフラグメントまたは合成もしくは半合成抗体アナログ。

【請求項 36】

医薬上許容される担体、賦形剤、ビヒクルまたは希釈液との混合において、請求項 27 ~ 35 のうちのいずれか 1 項記載の抗体分子あるいは特異的に結合するフラグメントまたは合成もしくは半合成抗体アナログを含む抗体組成物。

【請求項 37】

請求項 27 ~ 35 のうちのいずれか 1 項記載の 2 種の別個の抗体分子および / または特異的に結合するフラグメントおよび / または合成もしくは半合成抗体アナログを含む、請求項 36 記載の組成物。

【請求項 38】

請求項 27 ~ 35 のうちのいずれか 1 項記載の少なくとも 3 種の別個の抗体分子および / または特異的に結合するフラグメントおよび / または合成もしくは半合成抗体アナログを含み、かかる組成物が、4、5、6、7、9、10、11、12、13、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 種の別個の抗体分子および / またはフラグメントおよび / または合成もしくは半合成抗体アナログを含む、請求項 36 記載の組成物。

【請求項 39】

R S V F タンパク質に結合する少なくとも 1 種の抗体分子、フラグメントまたはアナログを含み、R S V G タンパク質に結合する少なくとも 1 種の抗体分子、フラグメントまたはアナログを含む、請求項 36 ~ 38 のうちのいずれか 1 項記載の組成物。

【請求項 40】

請求項 27 ~ 35 のうちのいずれか 1 項で定義される少なくとも 1 種の C D R のアミノ酸配列をコードする、単離核酸フラグメント。

【請求項 41】

少なくとも表 5 に記載されたクローンのうちの 1 つにより産生される抗体の C D R をコードする、請求項 40 記載の単離核酸フラグメント。

【請求項 42】

配列番号：1 ~ 44 のうちのいずれか 1 つに記載される重鎖アミノ酸配列の C D R 配列をコードする、単離核酸フラグメント。

【請求項 43】

配列番号：89 ~ 132 のうちのいずれか 1 つに記載される軽鎖アミノ酸配列の C D R 配列をコードする、単離核酸フラグメント。

【請求項 44】

配列番号：1 ~ 44 のうちのいずれか 1 つに記載される重鎖アミノ酸配列の C D R 配列および配列番号：1 ~ 44 から選択されるアミノ酸配列より 88 高い配列番号を有する付随の軽鎖 C D R アミノ酸配列をコードする、単離核酸フラグメント。

【請求項 45】

配列番号：45 ~ 88 および / または 133 ~ 176 に含まれるコーディング配列を含む、請求項 40 ~ 44 のうちのいずれか 1 項記載の核酸フラグメント。

【請求項 46】

請求項 40 ~ 45 のうちのいずれか 1 項に記載の核酸フラグメントを含む、ベクター。

【請求項 47】

自律的に複製することができる、請求項 46 記載のベクター。

【請求項 48】

プラスミド、ファージ、コスミド、ミニ染色体、およびウイルスからなる群から選択される、請求項 46 または 47 記載のベクター。

【請求項 4 9】

5' 3' 方向および作動可能な連結において、請求項 4 0 ~ 4 5 のうちのいずれか 1 項に記載の第 1 の核酸フラグメントの発現を促進するための少なくとも 1 つのプロモーターであって、必須なフレームワーク領域、任意選択でリーダーペプチドをコードする核酸配列、前記第 1 の核酸フラグメント、任意選択で定常領域をコードする核酸配列、および任意選択で第 1 の転写終結領域をコードする核酸配列と一緒に少なくとも 1 つの軽鎖 C D R をコードし、ならびに / あるいは

5' 3' 方向および作動可能な連結において、請求項 4 0 ~ 4 5 のうちのいずれか 1 項に記載の第 2 の核酸フラグメントの発現を促進するための少なくとも 1 つのプロモーターであって、必須なフレームワーク領域、任意選択でリーダーペプチドをコードする核酸配列、前記第 2 の核酸フラグメント、任意選択で定常領域をコードする核酸配列、および任意選択で第 2 の転写終結領域をコードする核酸配列と一緒に少なくとも 1 つの重鎖 C D R をコードするもの

を含む、請求項 4 6 ~ 4 8 のうちのいずれか 1 項記載のベクター。

【請求項 5 0】

宿主細胞に導入される時に宿主細胞のゲノムに組み込まれる、請求項 4 6 ~ 4 9 のうちのいずれか 1 項記載のベクター。

【請求項 5 1】

請求項 4 6 ~ 5 0 のうちのいずれか 1 項のベクターを有する、形質転換細胞。

【請求項 5 2】

請求項 4 6 ~ 5 0 のうちのいずれか 1 項記載のベクターを有し、請求項 4 0 ~ 4 5 のうちのいずれか 1 項記載の核酸フラグメントを発現し、ならびに任意選択的にその表面上でその組み換え発現産物を分泌または保有する安定な細胞株。

【請求項 5 3】

組み換え産生された多様性抗体分子の組成物を製造する方法であって、前記方法が、前記多様性抗体分子を、前記抗体分子のコーディング配列を含む発現ベクターでトランスフェクトされた細胞または細胞株から発現させることを含み、個々のメンバーが、少なくとも 1 種の外被タンパク質における少なくとも 3 種の異なるエピトープと一緒に結合することができ、ポリクローナル組成物が、R S V サブタイプ A および B を中和することができる、方法。

【請求項 5 4】

前記多様性抗体分子が、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項記載の抗 R S V 組み換えポリクローナル抗体を構成するものである、請求項 5 3 記載の方法。