【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３部門第２区分
【発行日】平成28年12月22日(2016.12.22)

【公表番号】特表2015-536345(P2015-536345A)
【公表日】平成27年12月21日(2015.12.21)
【年通号数】公開・登録公報2015-080
【出願番号】特願2015-542760(P2015-542760)
【国際特許分類】
*Ｃ０７Ｋ　16/42　(2006.01)*
*Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)*
*Ｃ１２Ｎ　15/00　(2006.01)*
*Ｃ１２Ｎ　5/10　(2006.01)*
*Ｃ１２Ｑ　1/06　(2006.01)*
*Ｃ０７Ｋ　19/00　(2006.01)*
*Ｃ０７Ｋ　14/31　(2006.01)*
*Ｃ０７Ｋ　14/735　(2006.01)*
【ＦＩ】
Ｃ０７Ｋ　16/42
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ１２Ｎ　15/00　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　5/00　１０２
Ｃ１２Ｑ　1/06
Ｃ０７Ｋ　19/00
Ｃ０７Ｋ　14/31
Ｃ０７Ｋ　14/735

【手続補正書】
【提出日】平成28年11月4日(2016.11.4)
【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】
ヒトIgG1-Fcドメイン、ヒトIgG2-Fcドメイン、またはヒトIgG4-Fcドメインに結合する、組換え型の抗原結合タンパク質：
ここで、
ａ．該組換え型の抗原結合タンパク質は、アミノ酸位置95番（IMGT番号付与）のヒスチジンまたはアミノ酸位置96番（IMGT番号付与）のチロシンを含むFcドメインに結合する抗体またはScFvを含むか；
ｂ．該組換え型の抗原結合タンパク質は、アミノ酸位置95番（IMGT番号付与）のヒスチジンまたはアミノ酸位置96番（IMGT番号付与）のチロシンを含む、SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を含むポリペプチドのFcドメインに結合する抗体またはScFvであるか；
ｃ．該組換え型の抗原結合タンパク質は、アミノ酸位置95番（IMGT番号付与）のヒスチジンまたはアミノ酸位置96番（IMGT番号付与）のチロシンを含む、SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を含むポリペプチドのFcドメインに、表面プラズモン共鳴アッセイ法で測定した場合に約40nM未満の$K_D$で結合する抗体またはScFvであるか；　および／または
ｄ．該組換え型の抗原結合タンパク質は、SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する重鎖C

DR-1(HCDR1)、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、およびSEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有するLCDR-2を含む抗体またはScFvが結合するFcドメイン上のエピトープと同じエピトープに結合する抗体またはScFvである。

【請求項２】

ａ．SEQ ID NO: 15と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)またはSEQ ID NO: 16と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)の1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を含む該抗原結合タンパク質であるか；

ｂ．SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR1)、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、およびSEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有するLCDR-2を含む該抗原結合タンパク質であるか；

ｃ．SEQ ID NO: 15と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 16と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するLCVRを含む該抗原結合タンパク質であるか；　または

ｄ．SEQ ID NO: 15のアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 16のアミノ酸配列を有するLCVRを含む該抗原結合タンパク質である、

請求項1記載の組換え型の抗原結合タンパク質。

【請求項３】

該抗原結合タンパク質が、

(a) (i) SEQ ID NO: 15と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン、(ii) SEQ ID NO: 16と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン、および(iii) SEQ ID NO: 17またはSEQ ID NO: 21と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む膜アンカードメイン；

(b) (i) SEQ ID NO: 15と同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメイン、(ii) SEQ ID NO: 16と同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメイン、および(iii) SEQ ID NO: 17またはSEQ ID NO: 21と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む膜アンカードメイン；　または

(c) SEQ ID NO: 19のアミノ酸配列、

を含むScFv融合タンパク質である、請求項1または2記載の組換え型の抗原結合タンパク質。

【請求項４】

(a) 請求項1～3のいずれか一項記載の抗原結合タンパク質；または

(b) SEQ ID NO: 19のアミノ酸配列を含むポリペプチド、

をコードする核酸配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項５】

(a)請求項4記載のポリヌクレオチド;

(b)該ポリヌクレオチドに機能的に連結されたプロモーター;および

(c)ポリアデニル化配列

を含む、核酸ベクター。

【請求項６】

(a) 宿主細胞のゲノム中に組み込まれるか、または

(b) CHO細胞である宿主細胞のゲノム中に組み込まれる、

請求項5記載の核酸ベクター。

【請求項７】

請求項1～3のいずれか一項記載の抗原結合タンパク質を発現する宿主細胞。

【請求項８】

CHO細胞である、請求項7記載の宿主細胞。

【請求項９】

IMGTのエキソン番号付与システムに基づく(a)95R、ならびに(b)95Rおよび96F、またはE

U番号付与システムに基づく(a')435R、ならびに(b')435Rおよび436Fからなる群より選択される1つまたは複数のアミノ酸置換を含む置換されたCH3ポリペプチドに特異的に結合する、組換え型の抗原結合タンパク質：

ここで、

ａ．該組換え型の抗原結合タンパク質は、SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合する抗体またはScFvを含むか、および／または

ｂ．該組換え型の抗原結合タンパク質は、表面プラズモン共鳴アッセイ法で測定した場合に約60nM未満の$K_D$で該ポリペプチドに結合する抗体またはScFvを含む。

【請求項１０】

(a) 該抗原結合タンパク質は、SEQ ID NO: 38と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)またはSEQ ID NO: 39と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)の1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を含むか；

(b) 該抗原結合タンパク質は、SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR-1)、SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有するLCDR-2、およびSEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有するLCDR-3を含む抗体またはScFvであるか；

(c) 該抗原結合タンパク質は、SEQ ID NO: 38と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 39と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するLCVRを含むか；

(d) 該抗原結合タンパク質は、SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有するLCVRを含むか；

(e) 該抗原結合タンパク質は、SEQ ID NO: 40と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 41と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するLCVRを含む抗体であるか；　および／または

(f) 該抗原結合タンパク質は、SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR1)、SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有するLCDR-2、およびSEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有するLCDR-3を含む抗体が結合する置換されたCH3ポリペプチド上のエピトープと同じエピトープに結合する、

請求項9記載の組換え型の抗原結合タンパク質。

【請求項１１】

該抗原結合タンパク質が、

(a) (i) SEQ ID NO: 38と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン、(ii)SEQ ID NO: 39と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン、および(iii)膜アンカードメイン；

(b) SEQ ID NO: 38と同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 39と同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメイン；　および／または

(c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列、

を含むScFv融合タンパク質である、請求項9または10記載の組換え型の抗原結合タンパク質。

【請求項１２】

(a) 請求項9～11のいずれか一項記載の抗原結合タンパク質；

(b) SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(c) SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むポリペプチド；　または

(c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を含むポリペプチド、

をコードする核酸配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項１３】

(a)請求項12記載のポリヌクレオチド；

(b)該ポリヌクレオチドに機能的に連結されたプロモーター;および
(c)ポリアデニル化配列
を含む、核酸ベクター。
【請求項１４】
(a) 宿主細胞のゲノム中に組み込まれるか； または
(b) CHO細胞である宿主細胞のゲノム中に組み込まれる、
請求項13記載の核酸ベクター。
【請求項１５】
請求項9～11のいずれか一項記載の抗原結合タンパク質を発現する宿主細胞。
【請求項１６】
CHO細胞である、請求項15記載の宿主細胞。
【請求項１７】
(a) (1) プロテインA、プロテインAの機能的断片、請求項1の抗原結合タンパク質、請求項9の抗原結合タンパク質、若しくは請求項10の抗原結合タンパク質を含む細胞表面捕捉タンパク質(CSCP)、および
(2) ヘテロ二量体タンパク質、
を宿主細胞において発現させる段階であって、(i)CSCPがヘテロ二量体タンパク質上の第1の部位に結合して、宿主細胞内部でCSCP-ヘテロ二量体タンパク質複合体を形成し、(ii)CSCP-ヘテロ二量体タンパク質複合体が宿主細胞を通って輸送され、(iii)次いで、宿主細胞の表面に提示される、段階;
(b)宿主細胞を、ヘテロ二量体タンパク質上の第2の部位に結合する検出分子と接触させる段階;ならびに
(c)検出分子に結合する宿主細胞を選択する段階
を含む、ヘテロ二量体タンパク質を安定に発現する細胞を検出または単離する方法。
【請求項１８】
段階(c)で宿主細胞を選択する前に、該細胞をブロッキング分子と接触させる段階であって、ブロッキング分子は、ヘテロ二量体タンパク質に結合していないCSCPには結合するが、CSCP-ヘテロ二量体タンパク質複合体には結合しない、段階を含む、請求項17記載の方法。
【請求項１９】
選択する段階(c)が蛍光活性化細胞選別によって実施される、請求項17または18記載の方法。
【請求項２０】
ヘテロ二量体タンパク質が複数のサブユニットを含み、ヘテロ二量体タンパク質上の第1の部位が第1のサブユニット上に存在し、かつヘテロ二量体タンパク質上の第2の部位が第2のサブユニット上に存在する、請求項17～19のいずれか一項記載の方法。
【請求項２１】
ヘテロ二量体タンパク質が抗体を含む、請求項20記載の方法。
【請求項２２】
ヘテロ二量体タンパク質上の第1の部位が、野生型CH3ドメインを含む重鎖上、またはIMGTのエキソン番号付与システムに基づく95番にヒスチジン残基を含みかつIMGTのエキソン番号付与システムに基づく96番にチロシン残基を含むCH3ドメインを含む重鎖上に存在する、請求項17～21のいずれか一項記載の方法。
【請求項２３】
ヘテロ二量体タンパク質上の第1の部位が、該野生型CH3ドメインまたは該95H／96Y CH3ドメイン上に存在し、且つ該第1の部位に結合するCSCPは、プロテインA、プロテインAの機能的断片、若しくは請求項3のScFv融合タンパク質を含む、請求項17～22のいずれか一項記載の方法。
【請求項２４】
抗原結合タンパク質が、プロテインAのFc結合ドメインを含むキメラタンパク質を含む

、請求項17～23のいずれか一項記載の方法。
【請求項２５】
キメラタンパク質が、プロテインAのFc結合ドメインおよび膜アンカーを含むか、またはプロテインAのFc結合ドメインおよびFc受容体の膜貫通ドメインを含む、請求項24記載の方法。
【請求項２６】
ヘテロ二量体タンパク質上の第1の部位が、IMGTのエキソン番号付与システムに基づく(a)95R、ならびに(b)95Rおよび96F、またはEU番号付与システムに基づく(a')435R、ならびに(b')435Rおよび436Fからなる群より選択される1つまたは複数のアミノ酸置換を含む置換されたCH3ポリペプチドを含む重鎖上に存在する、請求項17～21のいずれか一項記載の方法。
【請求項２７】
ヘテロ二量体タンパク質上の第1の部位が、該置換された95R CH3ドメイン若しくは該置換された95R／96F CH3ドメイン（IMGTのエキソン番号付与システム）、または該置換された435R CH3ドメイン若しくは該置換された435R／436F CH3ドメイン（EUのエキソン番号付与システム）上に存在し、且つ該第1の部位に結合するCSCPは、請求項11のScFv融合タンパク質を含む、請求項26記載の方法。
【請求項２８】
該第2の部位に結合する検出分子(DM)が、請求項9～11のいずれか一項記載の抗原結合タンパク質を含む、請求項22～25のいずれか一項記載の方法。
【請求項２９】
該第2の部位に結合する検出分子(DM)が、請求項1～3のいずれか一項記載の抗原結合タンパク質を含む、請求項26～28のいずれか一項記載の方法。
【請求項３０】
ブロッキング分子が非ヒトIgGまたはヒトFc分子である、請求項17～29のいずれか一項記載の方法。
【請求項３１】
該検出分子に結合し、且つ該ヘテロ二量体タンパク質を高レベルで産生する宿主細胞を選択する段階をさらに含む、請求項17記載の方法。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６８】
[本発明1001]
ヒトIgG1-Fcドメイン、ヒトIgG2-Fcドメイン、またはヒトIgG4-Fcドメインに結合する、組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1002]
SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合する、本発明1001の組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1003]
表面プラズモン共鳴アッセイ法で測定した場合に約40nM未満の$K_D$でポリペプチドに結合する、本発明1001または本発明1002の組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1004]
SEQ ID NO: 15と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)またはSEQ ID NO: 16と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)の1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を含む、本発明1001～1003のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1005]

SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR1)、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、およびSEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有するLCDR-2を含む、本発明1001～1004のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1006]

SEQ ID NO: 15と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 16と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1001～1005のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1007]

SEQ ID NO: 15のアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 16のアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1001～1006のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1008]

(a)SEQ ID NO: 15と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン、(b)SEQ ID NO: 16と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン、および(c)SEQ ID NO: 17またはSEQ ID NO: 21と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む膜アンカードメインを含むScFv融合タンパク質である、本発明1001～1007のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1009]

SEQ ID NO: 15と同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 16と同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを含むScFv融合タンパク質である、本発明1001～1008のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1010]

SEQ ID NO: 19のアミノ酸配列を含むScFv融合タンパク質である、本発明1001～1009のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1011]

SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR1)、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、およびSEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有するLCDR-2を含む抗体が結合するのと同じ、置換されたCH3ポリペプチド上のエピトープに結合する、組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1012]

本発明1001～1011のいずれかの抗原結合タンパク質をコードする核酸配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1013]

核酸が、SEQ ID NO: 19のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、本発明1012の単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1014]

(a)本発明1012または1013のポリヌクレオチド;

(b)該ポリヌクレオチドに機能的に連結されたプロモーター;および

(c)ポリアデニル化配列

を含む、核酸ベクター。

[本発明1015]

プロモーターがCMVプロモーターである、本発明1014の核酸ベクター。

[本発明1016]

選択マーカーをコードする核酸を含む、本発明1014または1015の核酸ベクター。

[本発明1017]

選択マーカーがネオマイシン耐性を与える、本発明1016の核酸ベクター。

[本発明1018]

エネルギー転移タンパク質をコードする核酸を含む、本発明1014～1017のいずれかの核酸ベクター。

[本発明1019]
エネルギー転移タンパク質が緑色蛍光タンパク質の誘導体である、本発明1018の核酸ベクター。
[本発明1020]
緑色蛍光タンパク質の誘導体が黄色蛍光タンパク質(「YFP」)である、本発明1019の核酸ベクター。
[本発明1021]
環状である、本発明1014～1020のいずれかの核酸ベクター。
[本発明1022]
直線状である、本発明1014～1020のいずれかの核酸ベクター。
[本発明1023]
宿主細胞のゲノム中に組み込まれる、本発明1022の核酸ベクター。
[本発明1024]
宿主細胞がCHO細胞である、本発明1014～1023のいずれかの核酸ベクター。
[本発明1025]
本発明1001～1011のいずれかの抗原結合タンパク質を発現する宿主細胞。
[本発明1026]
CHO細胞である、本発明1025の宿主細胞。
[本発明1027]
IMGTのエキソン番号付与システムに基づく(a)95R、ならびに(b)95Rおよび96F、またはEU番号付与システムに基づく(a')435R、ならびに(b')435Rおよび436Fからなる群より選択される1つまたは複数のアミノ酸置換を含む置換されたCH3ポリペプチドに特異的に結合する、組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1028]
SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合する、本発明1027の組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1029]
表面プラズモン共鳴アッセイ法で測定した場合に約60nM未満の$K_D$でポリペプチドに結合する、本発明1027または本発明1028の組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1030]
SEQ ID NO: 38と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)またはSEQ ID NO: 39と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)の1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を含む、本発明1027～1029のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1031]
SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR-1)、SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有するLCDR-2、およびSEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有するLCDR-3を含む、本発明1027～1030のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1032]
SEQ ID NO: 38と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 39と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1027～1031のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1033]
SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1027～1032のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。
[本発明1034]
SEQ ID NO: 40と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖およびSEQ ID NO: 41と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む抗体である、本発明1027～

1033のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1035]

SEQ ID NO: 40と同一のアミノ酸配列を有する重鎖およびSEQ ID NO: 41と同一のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、本発明1027～1034のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1036]

(a)SEQ ID NO: 38と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン、(b)SEQ ID NO: 39と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン、および(c)膜アンカードメインを含むScFv融合タンパク質である、本発明1027～1033のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1037]

SEQ ID NO: 38と同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 39と同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを含むScFv融合タンパク質である、本発明1027～1033および1036のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1038]

SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を含むScFv融合タンパク質である、本発明1027～1033、1036、および1037のいずれかの組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1039]

SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR1)、SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有するLCDR-2、およびSEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有するLCDR-3を含む抗体が結合するのと同じ、置換されたCH3ポリペプチド上のエピトープに結合する、組換え型の抗原結合タンパク質。

[本発明1040]

本発明1027～1039のいずれかの抗原結合タンパク質をコードする核酸配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1041]

核酸が、SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、本発明1040の単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1042]

核酸が、SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、本発明1040の単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1043]

核酸が、SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、本発明1040の単離されたポリヌクレオチド。

[本発明1044]

(a)本発明1040～1043のいずれかのポリヌクレオチド;

(b)該ポリヌクレオチドに機能的に連結されたプロモーター;および

(c)ポリアデニル化配列

を含む、核酸ベクター。

[本発明1045]

プロモーターがCMVプロモーターである、本発明1044の核酸ベクター。

[本発明1046]

選択マーカーをコードする核酸を含む、本発明1044または1045の核酸ベクター。

[本発明1047]

選択マーカーがネオマイシン耐性を与える、本発明1046の核酸ベクター。

[本発明1048]

エネルギー転移タンパク質をコードする核酸を含む、本発明1044～1047のいずれかの核酸ベクター。

[本発明1049]

エネルギー転移タンパク質が緑色蛍光タンパク質の誘導体である、本発明1048の核酸ベクター。

[本発明1050]

緑色蛍光タンパク質の誘導体が黄色蛍光タンパク質(「YFP」)である、本発明1049の核酸ベクター。

[本発明1051]

環状である、本発明1044～1050のいずれかの核酸ベクター。

[本発明1052]

直線状である、本発明1044～1050のいずれかの核酸ベクター。

[本発明1053]

宿主細胞のゲノム中に組み込まれる、本発明1052の核酸ベクター。

[本発明1054]

宿主細胞がCHO細胞である、本発明1044～1053のいずれかの核酸ベクター。

[本発明1055]

本発明1027～1039のいずれかの抗原結合タンパク質を発現する宿主細胞。

[本発明1056]

CHO細胞である、本発明1055の宿主細胞。

[本発明1057]

(a)細胞表面捕捉タンパク質(CSCP)およびヘテロ二量体タンパク質を宿主細胞において発現させる段階であって、(i)CSCPがヘテロ二量体タンパク質上の第1の部位に結合して、宿主細胞内部でCSCP-ヘテロ二量体タンパク質複合体を形成し、(ii)CSCP-ヘテロ二量体タンパク質複合体が宿主細胞を通って輸送され、(iii)次いで、宿主細胞の表面に提示される、段階;

(b)宿主細胞を、ヘテロ二量体タンパク質上の第2の部位に結合する検出分子と接触させる段階;ならびに

(c)検出分子に結合する宿主細胞を選択する段階

を含む、ヘテロ二量体タンパク質を安定に発現する細胞を検出または単離する方法。

[本発明1058]

段階(c)で宿主細胞を選択する前に、該細胞をブロッキング分子と接触させる段階であって、ブロッキング分子は、ヘテロ二量体タンパク質に結合していないCSCPには結合するが、CSCP-ヘテロ二量体タンパク質複合体には結合しない、段階を含む、本発明1057の方法。

[本発明1059]

選択する段階(c)が蛍光活性化細胞選別によって実施される、本発明1057または1058の方法。

[本発明1060]

ヘテロ二量体タンパク質が複数のサブユニットを含み、ヘテロ二量体タンパク質上の第1の部位が第1のサブユニット上に存在し、かつヘテロ二量体タンパク質上の第2の部位が第2のサブユニット上に存在する、本発明1057～1059のいずれかの方法。

[本発明1061]

ヘテロ二量体タンパク質が抗体を含む、本発明1060の方法。

[本発明1062]

抗体上の第1の部位が、野生型CH3ドメインを含む重鎖上に存在する、本発明1061の方法。

[本発明1063]

抗体上の第1の部位が、IMGTのエキソン番号付与システムに基づく95番にヒスチジン残基を含みかつIMGTのエキソン番号付与システムに基づく96番にチロシン残基を含むCH3ドメインを含む重鎖上に存在する、本発明1057～1062のいずれかの方法。

[本発明1064]

CSCPが、ヒトIgG1-Fcドメイン、ヒトIgG2-Fcドメイン、またはヒトIgG4-Fcドメインに

結合する組換え型の抗原結合タンパク質を含む、本発明1057～1063のいずれかの方法。

[本発明1065]

抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合する、本発明1057～1064のいずれかの方法。

[本発明1066]

抗原結合タンパク質が、プロテインAまたはプロテインAの機能的断片を含む、本発明1057～1065のいずれかの方法。

[本発明1067]

抗原結合タンパク質が、プロテインAのFc結合ドメインを含むキメラタンパク質である、本発明1066の方法。

[本発明1068]

キメラタンパク質が、プロテインAのFc結合ドメインおよび膜アンカーを含む、本発明1067の方法。

[本発明1069]

キメラタンパク質が、プロテインAのFc結合ドメインおよびFc受容体の膜貫通ドメインを含む、本発明1068の方法。

[本発明1070]

抗原結合タンパク質が、表面プラズモン共鳴アッセイ法で測定した場合に約40nM未満の$K_D$でポリペプチドに結合する、本発明1057～1064のいずれかの方法。

[本発明1071]

CSCPが、(a)SEQ ID NO: 15と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン、(b)SEQ ID NO: 16と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン、および(c)膜アンカードメインを含むScFv融合タンパク質を含む、本発明1057～1070のいずれかの方法。

[本発明1072]

検出分子(DM)が、SEQ ID NO: 38と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 39と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む抗原結合タンパク質を含む、本発明1071の方法。

[本発明1073]

CSCPが、(a)SEQ ID NO: 38と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン、(b)SEQ ID NO: 39と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン、および(c)膜アンカードメインを含むScFv融合タンパク質を含む抗原結合タンパク質を含む、本発明1057～1059のいずれかの方法。

[本発明1074]

検出分子(DM)が、SEQ ID NO: 15と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 16と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む抗原結合タンパク質を含む、本発明1073の方法。

[本発明1075]

ブロッキング分子が非ヒトIgGまたはヒトFc分子である、本発明1057～1074のいずれかの方法。

[本発明1076]

(a)膜アンカードメインを含む融合タンパク質でありかつヘテロ二量体タンパク質の第1のサブユニットに結合できる細胞表面捕捉タンパク質(CSCP)をコードする核酸を、ヘテロ二量体タンパク質を発現する細胞にトランスフェクトする段階;

(b)高収率でCSCPを発現する(a)の細胞を検出する段階;

(c)高収率でCSCPを発現する該細胞を単離および培養する段階;

(d)ヘテロ二量体タンパク質の第2のサブユニットに結合する検出分子を用いて、段階(c)の単離および培養された細胞の表面のヘテロ二量体タンパク質を検出する段階;ならびに

(e)検出されたヘテロ二量体タンパク質をその表面に有する段階(d)で検出された細胞を単離する段階

を含む、ヘテロ二量体タンパク質を高レベルで産生する細胞を検出および単離する方法。

[本発明1077]

ヘテロ二量体タンパク質が抗体を含む、本発明1076の方法。

[本発明1078]

ヘテロ二量体タンパク質の第1のサブユニットが、野生型CH3ドメインを含む重鎖ドメインを含む、本発明1076または1077の方法。

[本発明1079]

ヘテロ二量体タンパク質の第1のサブユニットが、IMGTのエキソン番号付与システムに基づく95番にヒスチジン残基を有しかつIMGTのエキソン番号付与システムに基づく96番にチロシン残基を有しているCH3ドメインを含む重鎖を含む、本発明1076～1078のいずれかの方法。

[本発明1080]

CSCPが、ヒトIgG1-Fcドメイン、ヒトIgG2-Fcドメイン、またはヒトIgG4-Fcドメインに結合する組換え型の抗原結合タンパク質を含む、本発明1076～1079のいずれかの方法。

[本発明1081]

組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合する、本発明1076～1080のいずれかの方法。

[本発明1082]

組換え型の抗原結合タンパク質が、プロテインAまたはプロテインAの機能的断片を含む、本発明1076～1081のいずれかの方法。

[本発明1083]

組換え型の抗原結合タンパク質が、プロテインAのFc結合ドメインを含む融合タンパク質である、本発明1082の方法。

[本発明1084]

融合タンパク質が、プロテインAのFc結合ドメインおよび膜アンカーを含む、本発明1082または1083の方法。

[本発明1085]

融合タンパク質が、プロテインAのFc結合ドメインおよびFc受容体の膜貫通ドメインを含む、本発明1082～1084のいずれかの方法。

[本発明1086]

組換え型の抗原結合タンパク質が、表面プラズモン共鳴アッセイ法で測定した場合に約40nM未満の$K_D$でポリペプチドに結合する、本発明1076～1081のいずれかの方法。

[本発明1087]

組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 15と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)またはSEQ ID NO: 16と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)の1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を含む、本発明1076～1081のいずれかの方法。

[本発明1088]

組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR-1)、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、およびSEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有するLCDR-2を含む、本発明1076～1081または1087のいずれかの方法。

[本発明1089]

組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR1)、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、およびSEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有するLCDR-2を含む抗体が結合するのと同じ、CH3ドメイン上のエピトープに結合する、本発明1076～1081、1087、または1088のいずれかの方法。

[本発明1090]

抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 15と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 16と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1076～1081または1087～1089のいずれかの方法。

[本発明1091]

抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 15のアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 16のアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1076～1081または1087～1090のいずれかの方法。

[本発明1092]

CSCPが、(a)SEQ ID NO: 15と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン、(b)SEQ ID NO: 16と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン、および(c)SEQ ID NO: 17またはSEQ ID NO: 21と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む膜アンカードメインを含むScFv融合タンパク質である、本発明1076～1081のいずれかの方法。

[本発明1093]

CSCPが、SEQ ID NO: 15と同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 16と同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを含むScFv融合タンパク質である、本発明1076～1081または1092のいずれかの方法。

[本発明1094]

CSCPが、SEQ ID NO: 19のアミノ酸配列を含むScFv融合タンパク質である、本発明1076～1081、1092、または1093のいずれかの方法。

[本発明1095]

ヘテロ二量体タンパク質の第2のサブユニットが、IMGTのエキソン番号付与システムに基づく95番にアルギニン残基を含みかつIMGTのエキソン番号付与システムに基づく96番にフェニルアラニン残基を含むCH3ドメインを含む重鎖を含む、本発明1076～1094のいずれかの方法。

[本発明1096]

検出分子(DM)が、ヒトIgG1-Fcドメイン、ヒトIgG2-Fcドメイン、またはヒトIgG4-Fcドメインに結合する標識された組換え型の抗原結合タンパク質を含み、Fcドメインが、IMGTのエキソン番号付与システムに基づく95番にアルギニン残基を含みかつIMGTのエキソン番号付与システムに基づく96番にフェニルアラニン残基を含む、本発明1095の方法。

[本発明1097]

検出分子が、標識された抗ヒトIgG F(ab')2を含む、本発明1095または1096の方法。

[本発明1098]

標識された組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合する、本発明1096または1097の方法。

[本発明1099]

標識された組換え型の抗原結合タンパク質が、表面プラズモン共鳴アッセイ法で測定した場合に約60nM未満の$K_D$でポリペプチドに結合する、本発明1096～1098のいずれかの方法。

[本発明1100]

標識された組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 38と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)またはSEQ ID NO: 39と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)の1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を含む、本発明1096～1099のいずれかの方法。

[本発明1101]

標識された組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR-1)、SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有するLCDR-2、およびSEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有するLCDR-3を含む、本発明1096～1100のいずれかの方法。

[本発明1102]
標識された組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 38と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 39と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1096～1101のいずれかの方法。
[本発明1103]
標識された組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1096～1102のいずれかの方法。
[本発明1104]
標識された組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 40と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖およびSEQ ID NO: 41と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖を含む標識された抗体である、本発明1096～1103のいずれかの方法。
[本発明1105]
標識された抗体が、SEQ ID NO: 40と同一のアミノ酸配列を有する重鎖およびSEQ ID NO: 41と同一のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、本発明1104の方法。
[本発明1106]
ヘテロ二量体タンパク質の第1のサブユニットが、IMGTのエキソン番号付与システムに基づく95番にアルギニン残基を有しかつIMGTのエキソン番号付与システムに基づく96番にフェニルアラニン残基を有するCH3ドメインを含む重鎖ドメインを含み、ヘテロ二量体タンパク質の第2のサブユニットが、IMGTのエキソン番号付与システムに基づく95番にヒスチジン残基を有しかつIMGTのエキソン番号付与システムに基づく96番にチロシン残基を有するCH3ドメインを含む重鎖ドメインを含む、本発明1076～1078のいずれかの方法。
[本発明1107]
CSCPが、(a)SEQ ID NO: 38と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン、(b)SEQ ID NO: 39と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン、および(c)膜アンカードメインを含むScFv融合タンパク質を含む、本発明1106の方法。
[本発明1108]
ScFv融合タンパク質が、SEQ ID NO: 38と同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 39と同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインを含む、本発明1107の方法。
[本発明1109]
ScFv融合タンパク質がSEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を含む、本発明1107または1108の方法。
[本発明1110]
検出分子(DM)が、SEQ ID NO: 15と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)またはSEQ ID NO: 16と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)の1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を含む標識された組換え型の抗原結合タンパク質を含む、本発明1106～1109のいずれかの方法。
[本発明1111]
標識された組換え型の抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1 (HCDR-1)、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、およびSEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有するLCDR-2を含む、本発明1110の方法。
[本発明1112]
検出分子(DM)が、SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する重鎖CDR-1(HCDR1)、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有するHCDR-2、SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有するHCDR-3、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR-1(LCDR-1)、およびSEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有するLCDR-2を含む抗体が結合するのと同じ、CH3ドメイン上のエピトープに結合する標識された組換え型の抗原結合タンパク質を含む、本発明1106の方法。

[本発明1113]
標識された抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 15と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 16と少なくとも95％同一であるアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1112の方法。
[本発明1114]
標識された抗原結合タンパク質が、SEQ ID NO: 15のアミノ酸配列を有するHCVRおよびSEQ ID NO: 16のアミノ酸配列を有するLCVRを含む、本発明1112または1113の方法。
[本発明1115]
ブロッキング分子が非ヒトIgGまたはヒトFc分子である、本発明1076～1114のいずれかの方法。
他の目的および利点は、以下の詳細な説明を再検討することによって明らかになると考えられる。