

【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3年7月29日(2021.7.29)

【公開番号】特開2021-61852(P2021-61852A)
 【公開日】令和3年4月22日(2021.4.22)
 【年通号数】公開・登録公報2021-019
 【出願番号】特願2021-1276(P2021-1276)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/10 (2006.01)
 C 0 7 K 16/46 (2006.01)
 C 1 2 N 15/13 (2006.01)
 C 4 0 B 40/08 (2006.01)
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/10 2 2 0 Z
 C 0 7 K 16/46 Z N A
 C 1 2 N 15/13
 C 4 0 B 40/08
 C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】令和3年6月15日(2021.6.15)

【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】

1つまたは複数の選択された物質との交差反応性が低下されるように、タンパク質のタンパク質結合部位を改善する方法であって、

タンパク質結合部位の複数のドメインのそれぞれについて、個別の単一置換ライブラリーを合成して、複数の個別の単一置換ライブラリーを与えるステップであって、単一置換ライブラリーの各メンバーが、異なる単一置換ライブラリーの少なくとも1つのメンバーのヌクレオチド配列と重複するヌクレオチド配列を有し、前記タンパク質結合部位の複数のドメインが1～250アミノ酸位置で個々に置換される、ステップと、

各単一置換ライブラリーの各メンバーを、事前候補タンパク質として個別に発現させるステップと、

標的分子に結合する事前候補タンパク質をコードする、各単一置換ライブラリーのメンバーを選択して、前記タンパク質のドメイン毎に選択されたライブラリーを形成するステップと、

前記1つまたは複数の選択された物質に結合する候補タンパク質をコードする、各単一置換ライブラリーの選択されたメンバーを枯渇させるステップと、

PCRにおいて、前記選択され、かつ枯渇されたライブラリーのメンバーをシャッフリングして、コンビナトリアルシャッフドライブラリーを生成するステップと、

前記シャッフドライブラリーのメンバーを、候補タンパク質として発現させるステップと、

結合条件下の反応混合物中で前記候補タンパク質を標的分子と一緒にインキュベートするステップと、

候補タンパク質の画分が結合したまま残留するまで前記標的分子を洗浄するステップと

、
前記標的分子に結合したまま残留する候補タンパク質をコードする、前記シャッフルド
ライブラリーのメンバーを選択するステップと
を含む方法。

【請求項 2】

前記タンパク質結合部位が、タンパク質ディスプレイシステムにより発現される抗体ま
たは抗体断片のタンパク質結合部位である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記タンパク質結合部位の前記複数のドメインが、10～250アミノ酸位置で個々に
置換される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記複数のドメインが、3～30の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

1つまたは複数の選択された物質との交差反応性が増加されるように、タンパク質のタ
ンパク質結合部位を改善する方法であって、

タンパク質結合部位の複数のドメインのそれぞれについて、個別の単一置換ライブラリ
ーを合成して、複数の個別の単一置換ライブラリーを与えるステップであって、単一置換
ライブラリーの各メンバーが、異なる単一置換ライブラリーの少なくとも1つのメンバ
ーのヌクレオチド配列と重複するヌクレオチド配列を有し、前記タンパク質結合部位の複数
のドメインが1～250アミノ酸位置で個々に置換される、ステップと、

各単一置換ライブラリーの各メンバーを、事前候補タンパク質として個別に発現させる
ステップと、

標的分子に結合する事前候補タンパク質をコードする、各単一置換ライブラリーのメン
バーを選択して、前記タンパク質のドメイン毎に選択されたライブラリーを形成するステ
ップと、

前記1つまたは複数の選択された物質に結合する候補タンパク質をコードする、各単一
置換ライブラリーの前のステップの選択されたメンバーから選択するステップと、

PCRにおいて、前記選択され、かつ枯渇されたライブラリーのメンバーをシャッフ
リングして、コンビナトリアルシャッフルドライブラリーを生成するステップと、

前記シャッフルドライブラリーのメンバーを、候補タンパク質として発現させるステ
ップと、

結合条件下の反応混合物中で前記候補タンパク質を標的分子と一緒にインキュベートす
るステップと、

候補タンパク質の画分が結合したまま残留するまで前記標的分子を洗浄するステップと

、
前記標的分子に結合したまま残留する候補タンパク質をコードする、前記シャッフルド
ライブラリーのメンバーを選択するステップと
を含む方法。

【請求項 6】

前記タンパク質結合部位が、タンパク質ディスプレイシステムにより発現される抗体ま
たは抗体断片のタンパク質結合部位である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記タンパク質結合部位の前記複数のドメインが、10～250アミノ酸位置で個々に
置換される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記複数のドメインが、3～30の範囲である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 9】

タンパク質のタンパク質結合部位を改善する方法であって、

タンパク質結合部位の複数のドメインのそれぞれについて、個別の単一置換ライブラリ

ーを合成して、複数の個別の単一置換ライブラリーを与えるステップであって、単一置換ライブラリーの各メンバーが、異なる単一置換ライブラリーの少なくとも1つのメンバーのヌクレオチド配列と重複するヌクレオチド配列を有し、前記タンパク質結合部位の複数のドメインが1～250アミノ酸位置で個々に置換される、ステップと、

各単一置換ライブラリーの各メンバーを、事前候補タンパク質として個別に発現させるステップと、

標的分子に結合する事前候補タンパク質をコードする、各単一置換ライブラリーのメンバーを選択して、前記タンパク質のドメイン毎に選択されたライブラリーを形成するステップであって、各単一置換ライブラリーの前記事前候補タンパク質が、熱、低pH、高pH、およびプロテアーゼ活性からなる群から選択される化学的または物理的条件で処理されている、ステップと、

PCRにおいて、前記選択されたライブラリーのメンバーをシャッフリングして、コンビナトリアルシャッフルドライブラリーを生成するステップと、

前記シャッフルドライブラリーのメンバーを、候補タンパク質として発現させるステップと、

結合条件下の反応混合物中で前記候補タンパク質を標的分子と一緒にインキュベートするステップと、

候補タンパク質の画分が結合したまま残留するまで前記標的分子を洗浄するステップと

前記標的分子に結合したまま残留する候補タンパク質をコードする、前記シャッフルドライブラリーのメンバーを選択するステップとを含む方法。

【請求項10】

前記事前候補タンパク質の前記熱処理は、前記事前候補タンパク質を40～70の範囲の温度に暴露するステップを含む、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記事前候補タンパク質の前記低pH処理は、前記事前候補タンパク質を1～4の範囲のpHに暴露するステップを含む、請求項9に記載の方法。

【請求項12】

前記事前候補タンパク質の前記高pH処理は、前記事前候補タンパク質を9～13の範囲のpHに暴露するステップを含む、請求項9に記載の方法。

【請求項13】

前記事前候補タンパク質の前記プロテアーゼ活性処理は、前記事前候補タンパク質を、血清プロテアーゼ、トリプシン、キモトリプシン、およびカテプシンからなる群から選択されるプロテアーゼに暴露するステップを含む、請求項9に記載の方法。