

【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18年1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2004-532038(P2004-532038A)
 【公表日】平成16年10月21日(2004.10.21)
 【年通号数】公開・登録公報2004-041
 【出願番号】特願2002-589648(P2002-589648)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 Z C C A

【手続補正書】
 【提出日】平成17年5月17日(2005.5.17)
 【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】

多数の修飾した抗原結合部位をコードする核酸のライブラリーを作製する方法であって、その修飾した抗原結合部位が、初期抗原結合部位をコードする配列を含む初期核酸に由来するものであり、

- a) ある初期抗原結合部位をコードする初期核酸を提供し、
- b) 初期核酸内における多数の標的コドンで天然に存在するアミノ酸変種をコードする変異されたオリゴヌクレオチドのセットを提供し、また、
- c) アミノ酸変種の配列を変異された各アミノ酸コドンでコードする、抗原結合部位をコードする変異核酸のセットをつくりだすために変異されたオリゴヌクレオチドのセットを用いるものであり、

これにより多数の修飾した抗原結合部位をコードする核酸のライブラリーを作製することを特徴とする方法。

【請求項2】

変異核酸によってコードされる抗原結合部位をコードするポリペプチドが発現されるように、抗原結合部位をコードする変異核酸を発現することをさらに含む請求項1記載の方法。

【請求項3】

発現された抗原結合部位ポリペプチドを、抗原に特異的に結合する能力をみるためにスクリーニングすることをさらに含む請求項2記載の方法。

【請求項4】

初期抗原結合部位ポリペプチドによって特異的に結合されることが可能な抗原に特異的に結合する能力をみるために発現させた抗原結合部位ポリペプチドをスクリーニングすることをさらに含む請求項3記載の方法。

【請求項5】

ステップ(a)の初期の核酸を至適化した指向変異システムから成る方法によって変異させることをさらに含む請求項1記載の方法。

【請求項6】

ステップ(a)の初期の核酸を合成ライゲーション再集合法を含む方法によって変異させることをさらに含む請求項1記載の方法。

【請求項7】

初期抗原結合部位をコードする配列を含む初期核酸に由来する多数の修飾した抗原結合部位をコードする核酸のライブラリーであって、下記のステップを含む方法によって作製されるライブラリー。

- (a) 初期抗原結合部位をコードする初期核酸を提供し；
- (b) 天然に存在するアミノ酸変種をコードする変異させたオリゴヌクレオチドのセットを提供し、その際その天然に存在するアミノ酸変種が初期核酸内にある多数の標的コドンでコードさせ、
- (c) 抗原結合部位をコードする変種核酸のセットを作製するため変異させたオリゴヌクレオチドのセットを用い、その際変種核酸が変異された各アミノ酸コドン上でアミノ酸変種の配列をコードするものであり、

これにより、多数の修飾した抗原結合部位をコードする核酸のライブラリーを作製する。

【請求項8】

鑄型抗体から変異抗体のライブラリーを作製する方法であって、下記のステップを含む方法。

- (a) 鑄型抗体をコードする初期核酸を提供し；
- (b) 天然に存在するアミノ酸変種を初期核酸内にある多数の標的コドンでコードする変異されたオリゴヌクレオチドのセットを提供し；そして、
- (c) 変異された各アミノ酸コドンでコードされたアミノ酸変種の配列を変異した抗体をコードする変異核酸のセットを作製するために変異されたオリゴヌクレオチドのセットを用い、

これにより、多数の変異抗体をコードする核酸のライブラリーを作製する。

【請求項9】

鑄型T細胞受容体(TCR)から変異T細胞受容体(TCR)のライブラリーを作製する方法であって、下記のステップを含む方法。

- (a) 鑄型T細胞受容体(TCR)をコードする初期核酸を提供し；
- (b) 天然に存在するアミノ酸変種を初期核酸内での多数の標的コドンでコードする変異されたオリゴヌクレオチドのセットを提供し；そして、
- (c) 変異された各アミノ酸コドンでアミノ酸変種の配列をコードしたT細胞受容体(TCR)をコードする変異核酸のセットを作り出すために変異されたオリゴヌクレオチドのセットを用い、

これにより、多数の変異T細胞受容体(TCR)をコードする核酸のライブラリーを作製する。

【請求項10】

鑄型主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子により変異主要組織適合抗原複合体(MHC)分子のライブラリーを作製する方法であって、下記のステップを含む方法。

- (a) 鑄型主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子をコードする初期核酸を提供し；
- (b) 天然に存在するアミノ酸変種を初期核酸内での多数の標的コドンでコードする変異されたオリゴヌクレオチドのセットを提供し；
- (c) 変異された各アミノ酸コドンでアミノ酸変種の配列をコードした主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子をコードする変異核酸のセットを作り出すために変異されたオリゴヌクレオチドのセットを用い、

これにより、多数の変異主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子をコードする核酸のライブラリーを作製する。

【請求項11】

抗原結合部位変種のセットをコードする核酸のセットを作製する方法であって、下記のステップを含む方法。

- (a) 抗原結合ポリペプチドをコードする鋳型核酸を提供し；
- (b) 天然に存在する19種すべてのアミノ酸変種を抗原結合ポリペプチドの一個のアミノ酸残基でコードする多数のオリゴヌクレオチドを提供し；
- (c) 各アミノ酸置換の非確率的な配列を変異された各アミノ酸コドンでコードする子孫抗原結合部位をコードする変異核酸のセットを作り出し、その際、19種すべて可能なアミノ酸の変化が、変異された各アミノ酸コドンで作り出されるものであり、
これにより、抗原結合部位変種のセットをコードする核酸のセットを作製する。

【請求項 1 2】

子孫ポリヌクレチドによってコードされた抗原結合部位をコードするポリペプチドが発現されるように、抗原結合部位をコードする子孫ポリヌクレチドのセットの発現をさらに含む請求項 1 1 記載の方法。

【請求項 1 3】

発現された抗原結合部位をコードするポリペプチドを、抗原に特異的に結合する能力をみるために、スクリーニングすることを含む請求項 1 2 記載の方法。

【請求項 1 4】

至適化指向変異システムを含む方法により鋳型核酸を変異させることをさらに含む請求項 1 1 記載の方法。

【請求項 1 5】

合成ライゲーション再集合を含む方法により鋳型核酸を変異することをさらに含む請求項 1 1 記載の方法。

【請求項 1 6】

抗体変種のセットを作製する方法であって、下記のステップを含む方法。

- (a) 抗体をコードする核酸を提供し；
- (b) 多数のオリゴヌクレオチドを提供し；
- (c) 各アミノ酸コドンで非確率的な単一アミノ酸置換した配列を作り出し、それによって19種すべて可能な天然に存在するアミノ酸の変異が各変異アミノ酸コドンで作り出され、それによって変異核酸のセットを作り出すものであり；
- (d) 変異核酸によってコードされる抗体変種が発現されるように、変異核酸のセットを発現する。

【請求項 1 7】

変異抗原結合部位を同定する方法であって、下記のステップを含む方法。

- (a) 抗原結合部位をコードする核酸を提供し；
- (b) 19種すべての天然に存在するアミノ酸変種を、抗原結合部位の全残基においてコードするオリゴヌクレオチドのセットを提供し；
- (c) 19種のアミノ酸置換変種を抗原結合部位の各残基でコードする変異核酸のセットを作り出すため、ステップ(b)のオリゴヌクレチドの配列をステップ(a)の核酸に組み入れ；
- (d) 各変異核酸をポリペプチドとして発現し、抗原に対する親和性を測定し；
- (e) 変異抗原結合部位を、ステップ(a)の核酸によってコードされる抗原結合部位の抗原結合親和性と比べ、増加又は減少した抗原結合特異性によって同定する。