

【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22年2月12日(2010.2.12)

【公表番号】特表2005-506067(P2005-506067A)

【公表日】平成17年3月3日(2005.3.3)

【年通号数】公開・登録公報2005-009

【出願番号】特願2003-533867(P2003-533867)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 P	3/04	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	5/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/10	(2006.01)
A 6 1 P	11/06	(2006.01)
A 6 1 P	15/00	(2006.01)
A 6 1 P	17/06	(2006.01)
A 6 1 P	19/02	(2006.01)
A 6 1 P	19/08	(2006.01)
A 6 1 P	27/02	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
C 0 7 K	16/18	(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)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	5/00	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	19/08	

A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 0 7 K	16/18	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 P	21/08	
G 0 1 N	33/53	D
C 1 2 N	5/00	B
C 1 2 N	5/00	A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成21年12月15日(2009.12.15)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 2 5 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 2 5 5】

ヒトA n g - 2をポリスチレン磁気ビーズの表面上に(1)4において50 u g / m lのA n g - 2を一晩直線コーティングする；及び(2)4においてA n g - 2を50 u g / m lのヤギ抗-A n g - 2抗体で一晩間接捕獲するという2つの方法により固定化した。ビーズ表面をP B S中2%ミルク(M P B S)によりブロックした。ヒトF a b ファージライブラリーを予備選択して、非被覆磁気ビーズまたはヤギ抗-A n g - 2抗体に反応するファージクローニングを除去した。次いで、A n g - 2被覆磁気ビーズを室温においてライブラリーファージと1.5時間インキュベートした。ファージ結合ステップの後、表面を約0.1%ツイーン20含有M P B Sで6回、その後約0.1%ツイーン20含有P B Sで6回、その後P B Sで2回洗浄した。結合したファージをまず約100 u g / m lのヒトT i e 2 - F c(ミネソタ州ミネアポリスに所在のR and D S y s t e m s)、次いで約100 mMトリエタノールアミンで溶離させた。溶離したファージを大腸菌T G 1細胞に感染させた。増幅し、次回スクリーニングのためにレスキュード。より厳格な洗浄を組み込み、入力ファージの回数を減らすことによりその後のスクリーニングにおける選択圧を上昇させた。3回の選択後、18個のユニークなA n g - 2結合F a b クローニングを同定した。これらは実質的にすべて上記したE L I S Aアフィニティーアッセイを用いて測定してヒトA n g - 2、マウスA n g - 2及びラットA n g - 2を認識した。前記ファージの約10%がヒトA n g - 1にも結合した。前記クローニングを以下のようにI g G 1抗体に変換させた。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 2 4 0

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 2 4 0】

病的組織及び正常組織におけるA n g - 2発現

A n g - 2発現を正常組織及び病的組織においてi n s i t uハイブリダイジョンを用いて試験した。ヒト(G e n b a n k受託番号A F 0 0 4 3 2 7, ヌクレオチド127

4 - 1 7 2 6) 及びマウス (G e n b a n k 受託番号 A F 0 0 4 3 2 6 , ヌクレオチド 1 1 3 5 - 1 5 8 8) A n g - 2 配列の断片を、ヒトまたはマウス胎仔肺 c D N A から逆転写酵素 - P C R により増幅し、 p G E M - T プラスミドにクローン化し、配列決定により確認した。 ³ ³ P 標識 アンチセンス R N A プローブを直線化プラスミド鑄型から ³ ³ P - U T P 及び R N A ポリメラーゼを用いて転写した。ホルムアルデヒド固定し、パラフィンに包埋させた組織のブロックを 5 μ m で切片化し、帯電スライド上に収集した。 in situ ハイブリダイジョンの前に、組織を 0 . 2 M H C l で透過化し、プロテイナーゼ K で消化し、トリエタノールアミン及び無水酢酸を用いてアセチル化した。切片をラジオ標識プローブと 5 5 S で一晩ハイブリダイズした後、 R N a s e 消化し、約 0 . 1 \times S S C 中 5 5 S で高ストリンジエント洗浄した。スライドをコダック N T B 2 エマルジョンに浸し、 4 S で 2 ~ 3 分間暴露し、展開し、対比染色した。切片を暗野及び標準照明で試験して、組織形態及びハイブリダイゼーションシグナルを同時に評価した。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 2 5 8

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 2 5 8】

各ファージ由来の軽鎖は または クラス であった。各軽鎖について、相補的プライマーは、 5 ' から 3 ' に向かって H i n d I I I 部位、 X b a I 部位、コザック配列及びシグナル配列 (上記) を付加するように設計された。誤りのないコード領域を有する上記鎖を完全長産物としてクローン化した。1 例として、ファージクローン 5 3 6 (配列番号 1 1) 由来の軽鎖を、シグナル配列の最後の 7 アミノ酸を付加したプライマー 2 6 2 7 - 6 9 (G T G G T T G A G A G G T G C C A G A T G T G A C A T T G T G A T G A C T C A G T C T C C ; 配列番号 7 5) 及びストップコドンの後に S a l I 部位を付加したプライマー 2 4 5 8 - 5 4 (C T T G T C G A C T T A T T A A C A C T C T C C C C T G T T G ; 配列番号 7 6) を用いて完全長コード領域として増幅させた。次いで、この P C R 産物を上記したようにそれぞれプライマー 2 4 5 8 - 5 4 の対として追加 5 ' プライマー 2 1 4 8 - 9 8 及び 2 4 8 9 - 3 6 を用いて増幅させて、シグナル配列及びクローニング部位を付加した。完全長軽鎖を X b a I - S a l I 断片として上記した哺乳動物発現ベクターにクローン化した。

【誤訳訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 2 7 2

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 2 7 2】

1 7 個の抗体及びネガティブコントロール I g G 1 (R D B I と呼ぶ) をアフィニティー及び中和 E L I S A (上記実施例 3 に記載した) 、 B I A c o r e 中和アッセイを用いて試験して、 アフィニティー 、中和及び特異性の能力を調べた。結果を下表 8 に示し、標準の手順を用いて計算した。