

【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26年1月9日 (2014.1.9)

【公表番号】特表2013-511260(P2013-511260A)

【公表日】平成25年4月4日 (2013.4.4)

【年通号数】公開・登録公報2013-016

【出願番号】特願2012-539082(P2012-539082)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/533 (2006.01)

G 0 1 N 33/535 (2006.01)

G 0 1 N 33/534 (2006.01)

G 0 1 N 33/574 (2006.01)

C 0 7 K 16/32 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 51/00 (2006.01)

A 6 1 K 49/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 5/00 1 0 2

G 0 1 N 33/53 N

G 0 1 N 33/533

G 0 1 N 33/535

G 0 1 N 33/534

G 0 1 N 33/574 A

C 0 7 K 16/32 Z N A

A 6 1 K 47/48

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 49/02 A

A 6 1 K 49/00 A

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 K 43/00

A 6 1 K 45/00

【手続補正書】

【提出日】平成25年11月13日 (2013.11.13)

【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】

配列番号 4 の ポリペプチド に結合する、単離抗体またはその断片。

【請求項 2】

I g G 抗体である、請求項 1 に記載の単離抗体またはその断片。

【請求項 3】

前記 I g G 抗体が、I g G 1 抗体、I g G 2 抗体、I g G 3 抗体、または I g G 4 抗体であり；ここで、前記 I g G 抗体がカップ軽鎖またはラムダ軽鎖を含む、請求項 2 に記載の単離抗体またはその断片。

【請求項 4】

モノクローナル抗体またはその断片である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の単離抗体またはその断片。

【請求項 5】

ヒトに対して実質的に非免疫原性である、請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の単離抗体またはその断片。

【請求項 6】

ヒト、ヒト化またはキメラである、請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載の単離抗体またはその断片。

【請求項 7】

M C F - 7 細胞または M V 4 - 1 1 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、前記 M C F - 7 細胞または M V 4 - 1 1 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させるか；M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、前記 M C F - 7 細胞の集団のうちの少なくとも 5 0 % を死滅させるか；または、M C F - 7 細胞および M C F 1 0 A 細胞の個別の集団および熱不活化血清と共に 7 2 または 9 6 時間にわたりインキュベートすると、前記 M C F 1 0 A 細胞より多くの前記 M C F - 7 細胞を死滅させる、請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の単離抗体またはその断片。

【請求項 8】

F a b 断片、F a b ' 断片、F (a b ')₂ 断片、もしくは F v 断片；ダイアボディー；直鎖状抗体；単鎖抗体；または抗体断片から形成される多重特異性抗体である、請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載の単離抗体またはその断片。

【請求項 9】

不死化 B 細胞によって産生される請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の単離抗体またはその断片であって、ここで、前記不死化 B 細胞は、それぞれ、クローン 5 D 1、クローン 3 H 1 1 (3 G 5)、クローン 2 D 3、クローン 7 G 7 (1 H 9)、クローン 2 H 3、クローン 9 F 9、クローン 8 G 4、またはクローン P 1 C 6 と命名されている、受託番号 P T A - 1 1 4 9 3、P T A - 1 1 4 9 5、P T A - 1 1 4 9 0、P T A - 1 1 4 9 6、P T A - 1 1 4 9 1、P T A - 1 1 4 9 2、P T A - 1 1 4 9 7 または P T A - 1 1 4 9 4 として、2 0 1 0 年 1 1 月 1 7 日に、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されている、単離抗体またはその断片。

【請求項 1 0】

放射性核種、フルオロフォア、化学発光化合物、蛍光化合物、酵素、毒素または化学療法剤をさらに含み、特に前記放射性核種、前記フルオロフォア、前記化学発光化合物、前記蛍光化合物、前記酵素、前記毒素、または前記化学療法剤は、前記単離抗体またはその断片に結合されている、請求項 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の単離抗体またはその断片。

【請求項 1 1】

ヌクレオリンをその表面に発現する細胞を死滅させるために使用するための組成物であって、請求項 1 から 1 0 のいずれか 1 項に記載の単離抗体またはその断片を含む組成物。

【請求項 1 2】

前記細胞が、肺癌細胞、乳癌細胞、前立腺癌細胞、結腸癌細胞、膵臓癌細胞、腎細胞癌細胞、卵巣癌細胞、白血病細胞、黒色腫細胞、膠芽腫細胞、神経芽腫細胞、肉腫細胞、および胃癌細胞を包含する癌細胞であるか、またはリンパ球、樹状細胞、末梢血単球、マクロファージ、および神経膠細胞を包含する免疫細胞である、請求項 1 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記組成物が、少なくとも1つのさらなる阻害剤または治療と組み合わせて使用されることを特徴とし、ここで、前記さらなる治療が、好ましくは、手術、放射線療法、化学療法、毒素療法、免疫療法、ホルモン療法、抗血管新生療法、遺伝子療法、および他の生物学的療法のうちの1または複数を含み、前記さらなる阻害剤が、好ましくは、放射性核種、化学療法剤、毒素、免疫療法剤、ホルモン、核酸、およびポリペプチドのうちの1または複数を含み、特にここで、

前記毒素が、ジフテリア毒素、外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデクシンA鎖、アルファ-サルシン、*Aleurites fordii*タンパク質、ジアンチンタンパク質、*phytolacca americana*タンパク質、ブタクサ抗ウイルス性タンパク質、*momordica charantia*阻害剤、クルシン、クロチン、*sapaonarria officinalis*阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、カリケアマイシン、またはトリコテセン毒素であるか、または

前記化学療法剤が、アルキル化剤、アントラサイクリン、細胞骨格破壊剤、エボチロン、トポイソメラーゼI阻害剤、トポイソメラーゼII阻害剤、ヌクレオシド類似体もしくはヌクレオチド類似体、前駆体類似体、ペプチド抗生物質、白金ベースの薬剤、レチノイド、ピンカアルカロイド、またはそれらの誘導体であり、特に、ここで、前記化学療法剤が、アクチノマイシン-D、*all-trans*レチノイン酸、アザシチジン、アドリアマイシン、アザチオプリン、ブレオマイシン、カンプトテシン、カルボプラチン、カペシタビン、シスプラチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、シタラビン、ダウノルビシン、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エボチロン、エトポシド、フルオロウラシル、5-フルオロウラシル(5FU)、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、過酸化水素、イダルビシン、イマチニブ、メクロレタミン、メルカプトプリン、メトトレキサート、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ベメトレキセド、テニポシド、チオグアニン、バルルビシン、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ビンデシン、またはビノレルビンである、請求項11または12に記載の組成物。

【請求項 14】

請求項1から9のいずれか1項に記載の単離抗体またはその断片を産生する、不死化B細胞。

【請求項 15】

EBVにより不死化させたB細胞である、請求項14に記載の不死化B細胞。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0043

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0043】

別の態様では、本発明が、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、もしくはFv断片；ダイアボディー；直鎖状抗体；単鎖抗体；または抗体断片から形成される多重特異性抗体である抗体断片の使用を含む、前記請求項のいずれかに記載の方法を提供する。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

ヒトヌクレオリンに結合する抗体を分泌する不死化ヒトB細胞を生成する方法であって、

(a) IgM陽性ヒトB細胞の集団を得るステップと、

(b) 前記集団を、

(i) 前記ヒトB細胞を不死化させるエプスタイン-バーウイルス(EBV)、

および

(i i) I g M から I g G への免疫グロブリンアイソタイプのクラススイッチを誘導するサイトカイン / 増殖因子 / シグナル伝達剤カクテル

と接触させるステップと、

(c) 前記不死化および前記免疫グロブリンアイソタイプのクラススイッチを支援する条件下で細胞を培養するステップと

を含む、方法。

(項目 2)

(d) ヒトヌクレオリンに対する抗体を発現する不死化ヒト B 細胞を選択するステップをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

選択するステップが、不死化 B 細胞の培養培地上清に対して実施されるイムノアッセイを含む、項目 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記サイトカインカクテルが、共起刺激シグナルをヒト B 細胞に送達する作用物質を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 5)

前記サイトカインカクテルが、抗 I g M F (a b ') ₂ インターロイキン (I L) - 2、I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 9、I L - 10、I L - 13、I N F、B A F F、可溶性 C D 4 0 L を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 6)

前記 I g M 陽性ヒト B 細胞の集団を、末梢血、扁桃腺、骨髓、脾臓、リンパ節、臍帯血、肝臓、アフエーシス手順、またはパフィコートから得る、項目 1 に記載の方法。

(項目 7)

ステップ (d) の不死化ヒト B 細胞から、重鎖および / または軽鎖の全体をコードする核酸を単離するステップをさらに含む、項目 2 に記載の方法。

(項目 8)

ステップ (d) の不死化ヒト B 細胞から、重鎖および / または軽鎖の抗原結合領域をコードする核酸を単離するステップをさらに含む、項目 2 に記載の方法。

(項目 9)

前記核酸を、重鎖および / または軽鎖のフレームワーク領域をコードする核酸へとクローニングするステップをさらに含む、項目 8 に記載の方法。

(項目 10)

ステップ (b) が、感染時における E B V の濃縮ステップ、遠心分離ステップ、またはこれらの両方をさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 11)

ステップ (c) の後に、前記ヒト B 細胞集団を凍結させるステップをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 12)

ステップ (b) (i i) の約 0 ~ 96 時間後にステップ (b) (i i) を実施する、項目 1 に記載の方法。

(項目 13)

ステップ (b) (i i) の約 16 ~ 20 時間後にステップ (b) (i i) を実施する、項目 12 に記載の方法。

(項目 14)

前記集団のうちの約 50 % ~ 99 % を、E B V 感染により不死化させる、項目 1 に記載の方法。

(項目 15)

前記集団のうちの約 95 % ~ 99 % を、E B V 感染により不死化させる、項目 14 に記載の方法。

(項目 1 6)

ステップ (d) を、感染の 1 ～ 4 週間後に行う、項目 2 に記載の方法。

(項目 1 7)

ステップ (d) を、感染の 2 ～ 3 週間後に行う、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 1 8)

ステップ (d) を、凍結保存した不死化 B 細胞を融解させた後に、かつ / または前記不死化 B 細胞に由来する凍結保存した培養培地上清を融解させた後に行う、項目 2 に記載の方法。

(項目 1 9)

前記 B 細胞が、抗原ナীব細胞である、項目 1 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記 B 細胞が、抗原経験細胞である、項目 1 に記載の方法。

(項目 2 1)

ヒトヌクレオリンに結合する I g G 抗体を発現する不死化ヒト B 細胞。

(項目 2 2)

配列番号 2 のタンパク質に結合する I g G 抗体を発現する不死化ヒト B 細胞。

(項目 2 3)

配列番号 1 によりコードされるタンパク質に結合する I g G 抗体を発現する不死化ヒト B 細胞。

(項目 2 4)

配列番号 4 を含むタンパク質に結合する I g G 抗体を発現する不死化ヒト B 細胞。

(項目 2 5)

配列番号 3 によりコードされるタンパク質に結合する I g G 抗体を発現する不死化ヒト B 細胞。

(項目 2 6)

前記 I g G 抗体が、I g G 1 抗体、I g G 2 抗体、I g G 3 抗体、または I g G 4 抗体である、項目 2 1 から 2 5 に記載の不死化ヒト B 細胞。

(項目 2 7)

前記 I g G 抗体が、I g G 1 抗体である、項目 2 1 から 2 5 に記載の不死化ヒト B 細胞。

(項目 2 8)

前記 I g G 抗体が、カッパ軽鎖を含む、項目 2 1 から 2 5 に記載の不死化ヒト B 細胞。

(項目 2 9)

前記 I g G 抗体が、ラムダ軽鎖を含む、項目 2 1 から 2 5 に記載の不死化ヒト B 細胞。

(項目 3 0)

E B V により不死化させた、項目 2 1 から 2 5 に記載の不死化ヒト B 細胞。

(項目 3 1)

T - 5 D 1、V - 3 H 1 1 (3 G 5)、T - 2 D 3、T - 7 G 7 (1 H 9)、T - 2 H 3、T - 9 F 9、T - 8 G 4、または T - P 1 C 6 と命名されている、項目 2 1 に記載の不死化ヒト B 細胞。

(項目 3 2)

受託番号 _____ として寄託されている不死化ヒト B 細胞であって、それぞれ、クローン 5 D 1、クローン 3 H 1 1 (3 G 5)、クローン 2 D 3、クローン 7 G 7 (1 H 9)、クローン 2 H 3、クローン 9 F 9、クローン 8 G 4、またはクローン P 1 C 6 と命名されており、2 0 1 0 年 1 1 月 1 7 日に、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に寄託されている不死化ヒト B 細胞。

(項目 3 3)

項目 2 1 から 2 5 に記載の細胞により生成される、単離抗体またはその断片。

(項目 3 4)

モノクローナル抗体またはその断片である、項目 3 3 に記載の単離抗体またはその断片

。

(項目 3 5)

ヒトに対して実質的に非免疫原性である、項目 3 3 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 3 6)

ヒト抗体またはその断片である、項目 3 3 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 3 7)

配列番号 4 のタンパク質に特異的に結合する、単離ヒトモノクローナル抗体またはその断片。

(項目 3 8)

M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、前記 M C F - 7 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させる、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 3 9)

M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、M V 4 - 1 1 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させる、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 4 0)

ヒトヌクレオリンの R N A 結合ドメインに結合する、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 4 1)

ヒトヌクレオリンの R N A 結合ドメインを不活化させる、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 4 2)

癌細胞に対する補体依存性細胞傷害を誘導する、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 4 3)

癌細胞に対する補体非依存性細胞傷害を誘導する、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 4 4)

接触時に癌細胞においてアポトーシスを誘導する、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 4 5)

A M L 癌細胞、C L L 癌細胞、または乳癌細胞を阻害するかまたは死滅させる、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 4 6)

癌細胞における B C L - 2 レベルを低減する、項目 3 3 から 3 7 に記載の単離抗体またはその断片。

(項目 4 7)

ヒトヌクレオリンタンパク質に特異的に結合する単離抗体またはその断片であって、M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、前記 M C F - 7 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させる、単離抗体またはその断片。

(項目 4 8)

ヒトヌクレオリンタンパク質に特異的に結合する単離抗体またはその断片であって、M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、M V 4 - 1 1 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させる、単離抗体またはその断片。

(項目 4 9)

前記ヒトヌクレオリンのアミノ酸配列が、配列番号 2 を含む、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 0)

配列番号 2 のアミノ酸残基 1 ~ 2 8 3 からなるアミノ酸配列に結合する、項目 4 7 また

は 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 1)

モノクローナル抗体またはその断片である、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 2)

ヒトに対して実質的に非免疫原性である、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 3)

ヒト抗体またはその断片である、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 4)

ヒトヌクレオリンの RNA 結合ドメインに結合する、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 5)

ヒトヌクレオリンの RNA 結合ドメインを不活化させる、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 6)

診断剤または治療剤に連結されている、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 7)

癌細胞に対する補体依存性細胞傷害を呈示する、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 8)

癌細胞に対する補体非依存性細胞傷害を呈示する、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 5 9)

接触時に癌細胞においてアポトーシスを誘導する、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 6 0)

A M L 癌細胞、C L L 癌細胞、または乳癌細胞を阻害するかまたは死滅させる、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 6 1)

癌細胞における B C L - 2 レベルを低減する、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 6 2)

診断剤に連結されている、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 6 3)

前記診断剤が、放射性核種、フルオロフォア、化学発光化合物、蛍光化合物、または酵素である、項目 6 2 に記載の抗体またはその断片。

(項目 6 4)

治療剤に連結されている、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 6 5)

前記治療剤が、放射性核種、毒素、または化学療法剤部分である、項目 6 4 に記載の抗体またはその断片。

(項目 6 6)

ヒトヌクレオリンタンパク質に特異的に結合する 1 または複数の単離抗体またはそれらの断片を含む抗ヌクレオリン組成物であって、M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、前記 1 または複数の抗体が、前記 M C F - 7 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させる、抗ヌクレオリン組成物。

(項目 6 7)

前記 1 または複数の単離抗体またはそれらの断片が、モノクローナル抗体またはその断

片である、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 6 8)

前記 1 または複数の単離抗体またはそれらの断片が、ヒトに対して実質的に非免疫原性である、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 6 9)

前記 1 または複数の単離抗体またはそれらの断片が、ヒト抗体またはその断片である、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 7 0)

前記 1 または複数の単離抗体またはそれらの断片が、ヒトヌクレオリンの RNA 結合ドメインに結合する、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 7 1)

前記 1 または複数の単離抗体またはそれらの断片が、ヒトヌクレオリンの RNA 結合ドメインを不活化させる、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 7 2)

前記ヒトヌクレオリンのアミノ酸配列が、配列番号 2 を含む、項目 4 7 または 4 8 に記載の抗体またはその断片。

(項目 7 3)

前記 1 または複数の単離抗体またはそれらの断片が、配列番号 4 に結合する、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 7 4)

放射性核種、フルオロフォア、化学発光化合物、蛍光化合物、酵素、毒素、または化学療法剤をさらに含む、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 7 5)

前記放射性核種、フルオロフォア、化学発光化合物、蛍光化合物、酵素、毒素、または化学療法剤が、前記 1 または複数の単離抗体またはそれらの断片にコンジュゲートされている、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 7 6)

前記ヒトヌクレオリントタンパク質に特異的に結合する 2 つ以上の単離抗体またはそれらの断片を含み、MCF-7 細胞およびヒト AB 血清と共に 48 時間にわたりインキュベートすると、前記 1 または複数の抗体が、前記 MCF-7 細胞の集団のうちの少なくとも 20 % を死滅させる、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 7 7)

前記ヒトヌクレオリントタンパク質に特異的に結合する 3 つ以上の単離抗体またはそれらの断片を含み、MCF-7 細胞およびヒト AB 血清と共に 48 時間にわたりインキュベートすると、前記 1 または複数の抗体が、前記 MCF-7 細胞の集団のうちの少なくとも 20 % を死滅させる、項目 6 6 に記載の抗ヌクレオリン組成物。

(項目 7 8)

ヌクレオリンをその表面に発現する細胞を阻害するかまたは死滅させる方法であって、前記細胞を、ヒトヌクレオリンに結合する抗体またはその断片と接触させるステップを含み、MCF-7 細胞およびヒト AB 血清と共に 48 時間にわたりインキュベートすると、前記抗体またはその断片が、前記 MCF-7 細胞の集団のうちの少なくとも 20 % を死滅させる、方法。

(項目 7 9)

前記抗体またはその断片が、ヒト抗体またはその断片である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 0)

前記抗体またはその断片が、モノクローナル抗体またはその断片である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 1)

前記抗体またはその断片が、配列番号 2 に結合する、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 2)

前記抗体またはその断片が、配列番号 1 によりコードされるアミノ酸配列に結合する、
項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 3)

前記抗体またはその断片が、配列番号 4 に結合する、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 4)

前記抗体またはその断片が、配列番号 3 によりコードされるアミノ酸配列に結合する、
項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 5)

前記細胞が、癌細胞である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 6)

前記癌細胞が、肺癌細胞、乳癌細胞、前立腺癌細胞、結腸癌細胞、膵臓癌細胞、腎細胞
癌細胞、卵巣癌細胞、白血病細胞、黒色腫細胞、膠芽腫細胞、神経芽腫細胞、肉腫細胞、
または胃癌細胞である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 7)

前記細胞が、免疫細胞である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記免疫細胞が、リンパ球、樹状細胞、末梢血単球、マクロファージ、または神経膠細
胞である、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記抗体またはその断片が、治療剤に連結されている、項目 7 8 から 8 8 に記載の方法
。

(項目 9 0)

前記治療剤が、放射性核種、毒素、または化学療法剤である、項目 8 9 に記載の方法。

(項目 9 1)

前記阻害するかまたは死滅させることが、前記細胞においてアポトーシスを誘導するス
テップを含む、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 9 2)

前記細胞が、ヒト被験体体内に存在し、前記接触させるステップが、前記抗体またはそ
の断片を前記被験体に投与するステップを含む、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 9 3)

前記細胞を、少なくとも 1 つのさらなる阻害剤または治療と接触させるステップをさら
に含む、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 9 4)

前記さらなる治療が、手術、放射線療法、化学療法、毒素療法、免疫療法、ホルモン療
法、抗血管新生療法、もしくは遺伝子療法、または他の生物学的療法のうちの 1 または複
数を含む、項目 9 3 に記載の方法。

(項目 9 5)

前記さらなる阻害剤が、放射性核種、化学療法剤、毒素、免疫療法剤、ホルモン、核酸
、またはポリペプチドのうちの 1 または複数を含む、項目 9 3 に記載の方法。

(項目 9 6)

前記毒素が、ジフテリア毒素、外毒素 A 鎖、リシン A 鎖、アブリン A 鎖、モデクシン A
鎖、アルファ - サルシン、Aleurites fordii タンパク質、ジアンチンタ
ンパク質、phytolacca americana タンパク質、ブタクサ抗ウイルス性
タンパク質、momordica charantia 阻害剤、クルシン、クロチン、s
apaonarria officinalis 阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリ
クトシン、フェノマイシン、エノマイシン、カリケアマイシン、またはトリコテセン毒素
である、項目 9 5 に記載の方法。

(項目 9 7)

前記化学療法剤が、アルキル化剤、アントラサイクリン、細胞骨格破壊剤、エポチロン
、トポイソメラーゼ I 阻害剤、トポイソメラーゼ II 阻害剤、ヌクレオシド類似体もしくは

はヌクレオチド類似体、前駆体類似体、ペプチド抗生物質、白金ベースの薬剤、レチノイド、ピンカアルカロイド、またはそれらの誘導体である、項目 9 5 に記載の方法。

(項目 9 8)

前記化学療法剤が、アクチノマイシン - D、a l l - t r a n s レチノイン酸、アザチジン、アドリアマイシン、アザチオプリン、ブレオマイシン、カンプトテシン、カルボプラチン、カペシタビン、シスプラチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、シタラビン、ダウノルビシン、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、エビルビシン、エポチロン、エトポシド、フルオロウラシル、5 - フルオロウラシル (5 F U)、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、過酸化水素、イダルビシン、イマチニブ、メクロレタミン、メルカプトプリン、メトトレキサート、マイトマイシン C、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ペメトレキセド、テニポシド、チオグアニン、バルルビシン、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ビンデシン、またはビノレルビンである、項目 9 5 に記載の方法。

(項目 9 9)

ヌクレオリンをその表面に発現する細胞を検出する方法であって、前記細胞を、前記ヌクレオリンに免疫学的に結合するヒト抗体またはその断片と接触させるステップを含む、方法。

(項目 1 0 0)

前記細胞が、癌細胞、免疫細胞、ヌクレオリンをその表面に発現する血管平滑筋細胞、ヌクレオリンをその表面に発現する内皮細胞、またはウイルスに感染した細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 1)

前記細胞が、ヌクレオリンをその表面に発現する前癌性細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 2)

前記癌細胞が、肺癌細胞、乳癌細胞、前立腺癌細胞、結腸癌細胞、膵臓癌細胞、腎細胞癌細胞、卵巣癌細胞、白血病細胞、黒色腫細胞、膠芽腫細胞、神経芽腫細胞、肉腫細胞、または胃癌細胞からなる群から選択される、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 3)

前記免疫細胞が、リンパ球、樹状細胞、末梢血単球、マクロファージ、または神経膠細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 4)

前記細胞が、免疫細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 5)

前記免疫細胞が、活性化免疫細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 6)

前記免疫細胞が、活性化 B 細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 7)

前記免疫細胞が、メモリー B 細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 8)

前記免疫細胞が、活性化 T 細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 0 9)

前記免疫細胞が、活性化 C D 4 + T 細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 1 0)

前記免疫細胞が、活性化 C D 8 + T 細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 1 1)

前記細胞が、血管平滑筋細胞または内皮細胞である、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 1 2)

前記抗体またはその断片が、診断剤に連結されている、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 1 3)

前記診断剤が、放射性核種、フルオロフォア、化学発光化合物、蛍光化合物、量子ドット、ナノ粒子、または酵素である、項目 1 1 2 に記載の方法。

(項目 1 1 4)

前記細胞が、ヒト被験体体内に存在し、前記接触させるステップが、前記抗体またはその断片を前記被験体に投与するステップを含む、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 1 5)

前記細胞が、単離組織試料中または単離細胞懸濁液中に存在する、項目 9 9 に記載の方法。

(項目 1 1 6)

哺乳動物における癌を治療または予防する方法であって、前記哺乳動物に、治療有効量の抗ヌクレオリン剤および薬学的に許容される担体を投与するステップを含み、前記抗ヌクレオリン剤が、抗ヌクレオリン抗体またはその断片を含み、M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、前記抗体またはその断片が、前記 M C F - 7 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させる、方法。

(項目 1 1 7)

哺乳動物における癌を治療または予防する方法であって、前記哺乳動物に、治療有効量の抗ヌクレオリン抗体もしくはその断片、毒素、または化学療法剤および薬学的に許容される担体を投与するステップを含み、M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、前記抗体またはその断片が、前記 M C F - 7 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させる、方法。

(項目 1 1 8)

哺乳動物における癌を治療または予防する方法であって、前記哺乳動物に、治療有効量の抗ヌクレオリン抗体またはその断片および薬学的に許容される担体を投与するステップと、前記哺乳動物を放射線療法でさらに治療するステップとを含み、M C F - 7 細胞およびヒト A B 血清と共に 4 8 時間にわたりインキュベートすると、前記抗体またはその断片が、前記 M C F - 7 細胞の集団のうちの少なくとも 2 0 % を死滅させる、方法。

(項目 1 1 9)

哺乳動物における癌を治療または予防する方法であって、前記哺乳動物に、治療有効量の抗ヌクレオリン剤および薬学的に許容される担体を投与するステップを含み、前記抗ヌクレオリン剤が、配列番号 4 のタンパク質に特異的に結合する抗ヌクレオリン抗体またはその断片を含む、方法。

(項目 1 2 0)

哺乳動物における癌を治療または予防する方法であって、前記哺乳動物に、治療有効量の抗ヌクレオリン抗体もしくはその断片、毒素、または化学療法剤および薬学的に許容される担体を投与するステップを含み、前記抗体またはその断片が、配列番号 4 のタンパク質に特異的に結合する、方法。

(項目 1 2 1)

哺乳動物における癌を治療または予防する方法であって、前記哺乳動物に、治療有効量の抗ヌクレオリン抗体またはその断片および薬学的に許容される担体を投与するステップと、前記哺乳動物を放射線療法でさらに治療するステップとを含み、前記抗体またはその断片が、配列番号 4 のタンパク質に特異的に結合する、方法。

(項目 1 2 2)

前記哺乳動物が、ヒトである、項目 1 1 6 から 1 2 1 に記載の方法。

(項目 1 2 3)

前記抗ヌクレオリン抗体またはその断片が、ヒトに対して実質的に非免疫原性である、項目 1 1 6 から 1 2 1 に記載の方法。

(項目 1 2 4)

前記抗ヌクレオリン抗体またはその断片が、ヒト抗体またはその断片である、項目 1 1 6 から 1 2 1 に記載の方法。

(項目 1 2 5)

前記抗ヌクレオリンモノクローナル抗体またはその断片が、モノクローナル抗体またはその断片である、項目116から121に記載の方法。

(項目126)

前記毒素が、ジフテリア毒素、外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデクシンA鎖、アルファ-サルシン、*Aleurites fordii*タンパク質、ジアンチンタンパク質、*phytolacca americana*タンパク質、ブタクサ抗ウイルス性タンパク質、*momordica charantia*阻害剤、クルシン、クロチン、*sapaonaria officinalis*阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、カリケアマイシン、またはトリコテセン毒素である、項目116から121に記載の方法。

(項目127)

前記化学療法剤が、アルキル化剤、アントラサイクリン、細胞骨格破壊剤、エポチロン、トポイソメラーゼI阻害剤、トポイソメラーゼII阻害剤、ヌクレオシド類似体もしくはヌクレオチド類似体、前駆体類似体、ペプチド抗生物質、白金ベースの薬剤、レチノイド、ピンカアルカロイド、またはこれらの誘導体である、項目116から121に記載の方法。

(項目128)

前記化学療法剤が、アクチノマイシン-D、*all-trans*レチノイン酸、アザシチジン、アドリアマイシン、アザチオプリン、ブレオマイシン、カンプトテシン、カルボプラチン、カペシタビン、シスプラチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、シタラビン、ダウノルビシン、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、エビルビシン、エポチロン、エトポシド、フルオロウラシル、5-フルオロウラシル(5FU)、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、過酸化水素、イダルビシン、イマチニブ、メクロレタミン、メルカプトプリン、メトトレキサート、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ペメトレキセド、テニポシド、チオグアニン、バルルビシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、またはビノレルビンである、項目116から121に記載の方法。

(項目129)

MCF-7細胞およびヒトAB血清と共に48時間にわたりインキュベートすると、前記MCF-7細胞の集団のうちの少なくとも50%を死滅させる、抗ヌクレオリン剤。

(項目130)

MCF-7細胞およびMCF10A細胞の個別の集団および熱不活化血清と共に72または96時間にわたりインキュベートすると、MCF10A細胞より多くのMCF-7細胞を死滅させる、抗ヌクレオリン剤。

(項目131)

MCF-7細胞およびMCF10A細胞の個別の集団およびヒトAB血清と共に96時間にわたりインキュベートすると、MCF10A細胞より多くのMCF-7細胞を死滅させる、抗ヌクレオリン剤。

(項目132)

配列番号4のタンパク質に特異的に結合し、それらの細胞表面においてヌクレオリンを発現する1または複数の癌細胞を阻害するかまたは死滅させる、抗ヌクレオリン剤。

(項目133)

ヒトに対して実質的に非免疫原性である、項目129から132に記載の抗ヌクレオリン剤。

(項目134)

1または複数の前癌性細胞における細胞表面ヌクレオリン発現の増大を検出することにより、被験体が癌を発生させる可能性を決定する方法。

(項目135)

Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、もしくはFv断片；ダイアボディー；直鎖状抗体；単鎖抗体；または抗体断片から形成される多重特異性抗体である、前記項

目のいずれかに記載の抗体。

(項目 1 3 6)

F a b 断片、F a b ' 断片、F (a b ')₂ 断片、もしくはF v 断片；ダイアボディー；直鎖状抗体；単鎖抗体；または抗体断片から形成される多重特異性抗体である抗体断片の使用を含む、前記項目のいずれかに記載の方法。

【 手 続 補 正 3 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 1 2 3

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 1 2 3 】

D . 細胞系の寄託

1 または複数のヌクレオリン (N C L) ポリペプチド (例えば、配列番号 4 またはその断片) に免疫特異的に結合する抗体を発現する細胞系は、2010 年 11 月 17 日、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n (10801、U n i v e r s i t y B o u l e v a r d、M a n a s s a s、V a . 20110 - 2209、U . S . A .) に原寄託物として寄託され、受託番号 A T C C _ P T A - 11490、A T C C _ P T A - 11491、A T C C _ P T A - 11492、A T C C _ P T A - 11493、A T C C _ P T A - 11494、A T C C _ P T A - 11495、A T C C _ P T A - 11496 および A T C C _ P T A - 11497 を与えられた。該寄託は、ブダペスト条約下でなされたものであり、本特許が交付されれば、37

C . F . R . 1 . 808 (b) において明記される要件を除き、寄託物質の一般公開可能性に対するすべての制約は取消不能な形で取り除かれるものとし、寄託の期限は37 C . F . R . 1 . 806 に準拠するものとする。