

【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20年6月26日(2008.6.26)

【公表番号】特表2007-537743(P2007-537743A)

【公表日】平成19年12月27日(2007.12.27)

【年通号数】公開・登録公報2007-050

【出願番号】特願2007-517396(P2007-517396)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成20年5月9日(2008.5.9)

【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】

所定のTCRの対応するCDR2配列とは異なる 鎖CDR2配列及び/又は 鎖CDR2配列を有するが、該所定のTCRと同じ 及び のCDR1配列及びCDR3配列を有する複数のTCRを作り、該複数のTCRからのメンバーの標的pMHCに関する親和性及び/又は解離速度を決定し、該標的pMHCに関して該所定のTCRより少なくとも10倍大きい親和性及び/又は該標的pMHCに関して該所定のTCRより少なくとも10倍遅い解離速度を有する 1 又はそれ以上のメンバーを選択することを含んでなる、所定の標的pMHCに特異的な所定のTCRの親和性を増大させ及び/又は解離速度を減少させる方法。

【請求項 2】

(a) 前記所定のTCRに関して前記 鎖CDR2配列で変異し前記 鎖CDR2配列では変異していない第 1 の複数のTCRを作り、

(b) 別に、該所定のTCRに関して該 鎖CDR2配列で変異し該 鎖CDR2配列では変異していない第 2 の複数のTCRを作り、

(c) 該第 1 及び第 2 の複数のTCRからのメンバーの前記標的pMHCに関する親和性及び/又は解離速度を決定し、該標的pMHCに関して該所定のTCRより少なくとも10倍大きい親和性及び/又は該標的pMHCに関して該所定のTCRより少なくとも10倍遅い解離速度を有する該複数の各々からの 1 又はそれ以上のメンバーを選択し、

(d) 該複数の各々からの選択したメンバーのCDR2配列を決定し、

(e) 各々が該第 1 の複数からの 鎖CDR2配列及び該第 2 の複数からの 鎖CDR2配列を有する 1 又はそれ以上のTCRを作り、

(f) 工程(e)で作った 1 又はそれ以上のTCRの該標的pMHCに関する親和性及び/又は解離速度を決定し、該標的pMHCに関して該所定のTCRより少なくとも10倍大きい親和性及び/又は該標的pMHCに関して該所定のTCRより少なくとも10倍遅い解離速度を有する 1 又はそれ以上のTCRを選択することを含んでなる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

(a) 前記所定のTCRの 鎖及び 鎖の両方をコードする核酸を提供し、

(b) 該核酸を、前記 鎖CDR2配列の 1 又はそれ以上のコドン及び前記 鎖CDR2配列の 1 又はそれ以上のコドンの変異誘発に付し、

(c) 工程(b)の該変異した核酸から、該所定のTCRに関して該 鎖CDR2配列の 1 又はそ

れ以上のアミノ酸及び該鎖CDR2配列の1又はそれ以上のアミノ酸で変異した複数のTCRを作り、

(d) 該複数のTCRのメンバーの前記標的pMHCに関する親和性及び/又は解離速度を決定し、該標的pMHCに関して該所定のTCRより少なくとも10倍大きい親和性及び/又は該標的pMHCに関して該所定のTCRより少なくとも10倍遅い解離速度を有する1又はそれ以上のメンバーを選択することを含んでなる請求項1に記載の方法。

【請求項4】

工程(b)において、前記核酸を、前記鎖CDR2配列の3つまでの連続コドン及び前記鎖CDR2配列の3つまでの連続コドンの変異誘発に付し、工程(c)において、前記所定のTCRに関して該鎖CDR2配列の3つまでの連続アミノ酸及び該鎖CDR2配列の3つまでの連続アミノ酸で変異した複数のTCRを作る請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記親和性及び/又は解離速度が表面プラズモン共鳴により決定される請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

前記標的pMHCに関して前記所定のTCRより少なくとも100倍大きい親和性及び/又は少なくとも100倍遅い解離速度を有する1又はそれ以上のTCRが選択される請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項7】

前記標的pMHCに関して前記所定のTCRより少なくとも500倍大きい親和性及び/又は少なくとも500倍遅い解離速度を有する1又はそれ以上のTCRが選択される請求項1又は5に記載の方法。

【請求項8】

親和性及び/又は結合速度/解離速度の決定用のTCRが可溶形態で作られる請求項1～7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項9】

親和性及び結合速度/解離速度の決定用のTCRがファージによりディスプレイされている二量体TCRの多様性ライブラリとして作られる請求項1～7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項10】

前記ファージによりディスプレイされている二量体TCRが、TCR鎖可変ドメイン配列に対応する配列がTCR鎖定常ドメイン細胞外配列に対応する配列のN末端に融合されている第1のポリペプチドと、

TCR鎖可変ドメイン配列に対応する配列がTCR鎖定常ドメイン細胞外配列に対応する配列のN末端に融合されている第2のポリペプチドとを含んでなり、

該第1及び第2のポリペプチドは天然型T細胞レセプターに等価物を有しないジスルフィド結合により連結され、

該第1又は第2のポリペプチドの一方がC末端で、ファージ粒子の表面露出アミノ酸残基にペプチド結合により連結されている請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記ファージによりディスプレイされている二量体TCRが、TCR鎖可変ドメイン配列に対応する配列がTCR鎖定常ドメイン細胞外配列に対応する配列のN末端に融合されている第1のポリペプチドと、

TCR鎖可変ドメイン配列に対応する配列がTCR鎖定常ドメイン細胞外配列に対応する配列のN末端に融合されている第2のポリペプチドとを含んでなり、

該第1及び第2のポリペプチドがTRAC^{*}01のエキソン1のThr48及びTRBC1^{*}01若しくはTRBC2^{*}01のエキソン1のSer57又はそれらの非ヒト等価物から置換されたシステイン残基間のジスルフィド結合により連結され、

該第 1 又は第 2 のポリペプチドの一方が C 末端で、ファージ粒子の表面露出アミノ酸残基にペプチド結合により連結されている請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記複数の TCR がリボソームによりディスプレイされている 単鎖 TCR の多様性ライブラリとして作られる請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記標的 pMHC に結合するライブラリメンバーの親和性及び/又は解離速度を決定し、所望の親和性及び/又は解離速度を有するものを選択するために、

(i) 該ライブラリの幾つかのメンバーを並列して該標的 pMHC と接触させ、該 pMHC と結合するメンバーを同定し、

(ii) 工程 (i) で同定したメンバーを順次、該標的 pMHC と接触させ、該 pMHC に関するそれらの親和性を評価し、

(iii) 工程 (ii) で評価した該所望の親和性を有する 1 又はそれ以上のメンバーを選択し、ディスプレイされている TCR の CDR2 配列を決定し、

(v) このように決定した CDR2 配列が組み込まれている可溶形態の TCR を作り、

(vi) これら TCR の該標的 pMHC に関する親和性及び/又は解離速度を再決定又は場合によっては決定し、

(vii) 工程 (vi) で決定した該所望の親和性及び/又は解離速度を有する 1 又はそれ以上の TCR を選択する請求項 9 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の方法により選択される TCR と同じ CDR1 配列、CDR 2 配列及び CDR3 配列を有する TCR。