

【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 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 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12】

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13】

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つては決定し、

(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9～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

請求項1～13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、CDR2配列及びCDR3配列を有するTCR。