

【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 23 年 6 月 30 日 (2011.6.30)

【公開番号】特開 2010-162030 (P2010-162030A)

【公開日】平成 22 年 7 月 29 日 (2010.7.29)

【年通号数】公開・登録公報 2010-030

【出願番号】特願 2010-36225 (P2010-36225)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 4 0 B 40/08 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 4 0 B 40/08

【手続補正書】

【提出日】平成 23 年 5 月 11 日 (2011.5.11)

【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】

複数の繊維状ファージ粒子を含むライブラリーであって、複数のファージ粒子のそれぞれは、

(i) 小外被タンパク質の機能ドメインに融合した長さ 100 アミノ酸未満のクニツドメイン含有タンパク質を含む提示タンパク質、

(i i) (i) の提示タンパク質の一部ではない小外被タンパク質の機能ドメイン、及び

(i i i) (a) 感染性ファージ粒子を産生するのに十分なファージ遺伝子であって、クニツドメイン含有タンパク質をコードする配列に融合していない小外被タンパク質をコードする遺伝子を含む、前記ファージ遺伝子、及び (b) 提示タンパク質をコードする配列、を含む核酸、を含む、

ここで、クニツドメインは、X 以外の位置で、

M H S F C A F K A D X₁₁ G X₁₃ C X₁₅ X₁₆ X₁₇ X₁₈ X₁₉ R F F F N I F
T R Q C E E F X₃₄ Y G G C X₃₉ X₄₀ N Q N R F E S L E E C K K M C T R D G A
(配列番号 10)

と少なくとも 85 % 同一な配列を含み；そして

X₁₁ は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W、Y のうちの一つであり；

X₁₃ は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W、Y のうちの 1 つであり；

X₁₅ は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Y のうちの 1 つであり；

X₁₆ は：A、G、E、D、H、T のうちの 1 つであり；

X₁₇ は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Y のうちの 1 つであり；

X₁₈ は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Y

のうちの1つであり；

X₁₉は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W

、Yのうちの1つであり；

X₃₄は：A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V

、W、Yのうちの1つであり；

X₃₉は：A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V

、W、Yのうちの1つであり；そして

X₄₀は：G、Aのうちの1つである、そして

ここで、X₁₁、X₁₃、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₃₄、X₃₉

、及びX₄₀のうち少なくとも2つは複数の粒子間で変化しており、少なくとも2つの変

化した位置の少なくとも1つはクニツドメインの第1相互作用ループ内にあり、そして

少なくとも2つの変化した位置の少なくとも1つはクニツドメインの第2相互作用ル

ープ内にあり、そして、該複数のものにおけるファージ粒子あたりのクニツドメイン含有

タンパク質の平均コピー数は2.0未満である、

前記ライブラリー。

【請求項2】

少なくともアミノ酸位置16、17、18、19、34、及び39が変化している、請

求項1に記載のライブラリー。

【請求項3】

少なくともアミノ酸位置11、13、15、16、17、18、19、34、及び39

が変化している、請求項2に記載のライブラリー。

【請求項4】

アミノ酸位置11、13、15、16、17、18、19、34、39、及び40が変

化している、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項5】

複数のファージ粒子を含むライブラリーであって、複数のファージ粒子のそれぞれは、

(i) 遺伝子IIIファージ外被タンパク質の少なくとも一部に融合した長さ100

アミノ酸未満のクニツドメイン含有タンパク質を含む、提示タンパク質、

(ii) 提示タンパク質の一部ではない、機能遺伝子IIIファージ外被タンパク質

又はそのアンカードメイン、並びに

(iii) (a) 感染性ファージ粒子を産生するのに十分なファージ遺伝子、及び (

b) 提示タンパク質をコードする配列、を含む核酸、

を含み、

ここで、クニツドメインは、X以外の位置で、

M H S F C A F K A D X₁₁ G X₁₃ C X₁₅ X₁₆ X₁₇ X₁₈ X₁₉ R F F F N I F

T R Q C E E F X₃₄ Y G G C X₃₉ X₄₀ N Q N R F E S L E E C K K M C T R D G A

(配列番号10)

と少なくとも85%同一な配列を含み；そして

X₁₁は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W

、Yのうちの1つであり；

X₁₃は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W

、Yのうちの1つであり；

X₁₅は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Y

のうちの1つであり；

X₁₆は：A、G、E、D、H、Tのうちの1つであり；

X₁₇は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Y

のうちの1つであり；

X₁₈は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Y

のうちの1つであり；

X₁₉は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W

、Yのうちの1つであり；

X₃₄は：A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V

、W、Yのうちの1つであり；

X₃₉は：A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V

、W、Yのうちの1つであり；そして

X₄₀は：G、Aのうちの1つである、そして

ここで、X₁₁、X₁₃、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₃₄、X₃₉、及びX₄₀のうち少なくとも2つは複数の粒子間で変化しており、少なくとも2つの変化した位置の少なくとも1つはクニツドメインの第1相互作用ループ内にあり、そして少なくとも2つの変化した位置の少なくとも1つはクニツドメインの第2相互作用ループ内にある、

前記ライブラリー。

【請求項6】

提示タンパク質が遺伝子III外被タンパク質アンカードメインを含む、請求項5に記載のライブラリー。

【請求項7】

ファージ遺伝子が野生型遺伝子III外被タンパク質をコードする遺伝子を含む、請求項5に記載のライブラリー。

【請求項8】

理論的多様性が $10^3 \sim 10^{12}$ である、請求項5に記載のライブラリー。

【請求項9】

少なくともアミノ酸位置15、16、17、18、34、及び39が変化している、請求項8に記載のライブラリー。

【請求項10】

アミノ酸位置11、13、15、16、17、18、19、34、39、及び40が変化している、請求項8に記載のライブラリー。

【請求項11】

該複数のものにおけるファージ粒子あたりのクニツドメインの平均コピー数が1.5未満である、請求項5に記載のライブラリー。

【請求項12】

標的と相互作用するクニツドメインをコードする核酸を提供する方法であって：

請求項1に記載のライブラリーを提供し；

ライブラリーを形成するファージ粒子を標的と接触させ；そして

標的と相互作用する粒子から核酸を回収する、

ことを含む、前記方法。

【請求項13】

標的が固定されており、回収工程が、標的と相互作用する粒子を標的と相互作用しない粒子から分離することを含む、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

標的と相互作用するクニツドメインをコードする核酸を提供する方法であって：

請求項5に記載のライブラリーを提供し；

ライブラリーを形成するファージ粒子を標的と接触させ；そして

標的と相互作用する粒子から核酸を回収する、

ことを含む、前記方法。

【請求項15】

標的がプロテアーゼである、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

ファージベクターであって：

(a) 感染性ファージ粒子を産生するのに十分なファージ遺伝子、及び(b) 提示タンパク質をコードする配列、

を含み、

提示タンパク質は小外被タンパク質の機能ドメイン及び長さ100アミノ酸未満のクニツドメイン含有タンパク質を含み、ここで、クニツドメインは、X以外の位置で、
 M H S F C A F K A D X_{1 1} G X_{1 3} C X_{1 5} X_{1 6} X_{1 7} X_{1 8} X_{1 9} R F F F N I F
 T R Q C E E F X_{3 4} Y G G C X_{3 9} X_{4 0} N Q N R F E S L E E C K K M C T R D G A
 (配列番号10)

と少なくとも85%同一な配列を含み；

X_{1 1}は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W、Yのうちの1つであり；

X_{1 3}は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W、Yのうちの1つであり；

X_{1 5}は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Yのうちの1つであり；

X_{1 6}は：A、G、E、D、H、Tのうちの1つであり；

X_{1 7}は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Yのうちの1つであり；

X_{1 8}は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、Yのうちの1つであり；

X_{1 9}は：A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W、Yのうちの1つであり；

X_{3 4}は：A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W、Yのうちの1つであり；

X_{3 9}は：A、C、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、P、Q、R、S、T、V、W、Yのうちの1つであり；そして

X_{4 0}は：G、Aのうちの1つである、

ここで、ファージ遺伝子は、提示タンパク質をコードする配列に融合していない小外被タンパク質をコードする遺伝子を含む、前記ベクター。

【請求項17】

クニツドメインが、ヒトLACI-K1(配列番号1)と少なくとも85%同一である、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項18】

クニツドメインが、ヒトLACI-K1(配列番号1)である、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項19】

クニツドメインが、X以外の位置で、

M H S F C A F K A D X_{1 1} G X_{1 3} C X_{1 5} X_{1 6} X_{1 7} X_{1 8} X_{1 9} R F F F N I F
 T R Q C E E F X_{3 4} Y G G C X_{3 9} X_{4 0} N Q N R F E S L E E C K K M C T R D G A
 (配列番号10)

と100%同一な配列を含む、請求項5に記載のライブラリー。

【請求項20】

小外被タンパク質が、遺伝子III外被タンパク質である、請求項1に記載のライブラリー。