

【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28年2月12日(2016.2.12)

【公表番号】特表2015-503907(P2015-503907A)

【公表日】平成27年2月5日(2015.2.5)

【年通号数】公開・登録公報2015-008

【出願番号】特願2014-547977(P2014-547977)

【国際特許分類】

C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 4 0 B	40/02	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
G 0 1 N	33/48	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
C 4 0 B	30/04	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	5/00	1 0 2
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 1 2 N	1/21	Z N A
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/15	
C 4 0 B	40/02	
C 1 2 N	15/00	A
C 0 7 K	19/00	
C 1 2 P	21/08	
C 1 2 Q	1/02	
G 0 1 N	33/48	M
G 0 1 N	33/53	Y
C 4 0 B	30/04	

【手続補正書】

【提出日】平成27年12月16日(2015.12.16)

【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】

以下の段階を含む、二重特異性抗体を分泌する細胞を選択する方法：

- (a) レンチウイルスのウイルス粒子の集団を形質導入することにより、真核細胞の集団を作製する段階であって、該レンチウイルスのウイルス粒子の各々が、分泌型二重特異性抗体をコードするバイシストロニック発現カセットを含み、該カセットが、EV71-IRESの上流のホール遺伝子座またはノブ遺伝子座における第1重鎖可変ドメインコード核酸、およ

びEV71-IRESの下流の各他方の遺伝子座における第2重鎖可変ドメインコード核酸を含み、該第1重鎖可変ドメインが第1抗原に結合し、かつ該第2可変ドメインが第2抗原に結合し、該第1抗原と該第2抗原が同じであってもまたは異なってもよく、該真核細胞が共通の軽鎖を発現する、段階ならびに

(b) 該真核細胞の集団から、分泌された全長二重特異性抗体の特性に従って細胞を選択する段階。

#### 【請求項2】

第1段階として、以下の段階のうちの1つまたは複数を含むことを特徴とする、請求項1記載の方法：

- ・トランスジェニック動物を関心対象の抗原で免疫化する段階であって、該実験動物のB細胞が同じ軽鎖を発現する、段階、および／または

- ・FACSによるバルク選別により、該免疫化実験動物のB細胞を選択する段階、および／または

- ・シャトルベクター／レンチウイルス発現ベクターへの指向的クローニングを可能にするための特有の制限部位を導入する2つの別個の／連続的なポリメラーゼ連鎖反応法による個々のPCR增幅により、各B細胞の重鎖コード核酸を得る段階。

#### 【請求項3】

以下の段階を含むことを特徴とする、請求項2記載の方法：

- ・EV71-IRESを含む、完全な第1重鎖コード核酸および第2重鎖の可変ドメインをコードする核酸(2.2 kbp)のPCRを行い、膜貫通ドメインをもたない第2シャトルベクターにクローニングする段階。

#### 【請求項4】

バイリストロニック発現力セットが、5'から3'方向に、

- ・プロモーター
- ・第1全長抗体重鎖をコードする第1核酸、
- ・EV71-IRES、
- ・第2全長抗体重鎖をコードする第2核酸

を含むことを特徴とする、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

#### 【請求項5】

抗体が二価二重特異性抗体であることを特徴とする、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。

#### 【請求項6】

抗体が2つの異なる抗原または同じ抗原上の2つのエピトープに特異的に結合することを特徴とする、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

#### 【請求項7】

第1全長抗体重鎖がホール変異を含み、かつ第2抗体重鎖がノブ変異を含むことを特徴とする、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

#### 【請求項8】

全長抗体が、ヒト起源の、特にヒトIgG1、IgG2、またはIgG4クラスの定常領域を含むことを特徴とする、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

#### 【請求項9】

真核細胞が哺乳動物細胞または酵母細胞であることを特徴とする、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

#### 【請求項10】

哺乳動物細胞がCHO細胞またはHEK細胞であることを特徴とする、請求項1～9のいずれか一項記載の方法。

#### 【請求項11】

免疫グロブリン重鎖をコードする核酸が、ゲノムとして組織化された免疫グロブリン重鎖遺伝子のすべてのエクソンおよび1つ以外のすべてのインtronを含むことを特徴とする、請求項1～10のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 1 2】**

抗体がヒト化抗体またはヒト抗体、特にヒト抗体であることを特徴とする、請求項1～1のいずれか一項記載の方法。