

【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24年2月9日(2012.2.9)

【公開番号】特開2011-182794(P2011-182794A)

【公開日】平成23年9月22日(2011.9.22)

【年通号数】公開・登録公報2011-038

【出願番号】特願2011-62697(P2011-62697)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 4 0 B 30/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 4 0 B 30/00

C 0 7 K 16/00

【手続補正書】

【提出日】平成23年12月12日(2011.12.12)

【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】

ポリペプチド類似体のライブラリーであって、以下の：

ポリペプチドのアミノ酸配列の限定領域を選択し；

限定領域内の各アミノ酸位置で置換されるべきアミノ酸残基を確定し；

限定領域をコードする個々のポリヌクレオチドを合成し、ポリヌクレオチドは集合的に以下の判定基準に従って考え得る変異体ポリヌクレオチドを表し：

i) 各ポリヌクレオチドが、限定領域中の各コドン位置に、ポリペプチドのアミノ酸残基に必要なコドンまたは予定アミノ酸残基に関するコドンを含有し、

ii) 各ポリヌクレオチドが予定アミノ酸残基に関する1つ以下のコドンを含有する；

それにより、予定アミノ酸残基が限定領域内の各アミノ酸位置に出現するポリヌクレオチドのライブラリーを生成する

ことを包含する方法により調製されるライブラリー。

【請求項2】

所望の構造または性能を有するポリペプチドの同定方法であって、以下の：

ポリペプチドのアミノ酸配列の限定領域を選択し；

限定領域内の各アミノ酸位置で置換されるべきアミノ酸残基を確定し；

限定領域をコードする個々のポリヌクレオチドを合成し、ポリヌクレオチドは集合的に以下の判定基準に従って考え得る変異体ポリヌクレオチドを表し：

i) 各ポリヌクレオチドが、限定領域中の各コドン位置に、ポリペプチドのアミノ酸残基に必要なコドンまたは予定アミノ酸残基に関するコドンを含有し、

ii) 各ポリヌクレオチドが予定アミノ酸残基に関する1つ以下のコドンを含有する；

それにより、ポリヌクレオチドを含有する発現ライブラリーを生成し；  
ポリペプチド類似体を生成するために発現ライブラリーを発現し；  
そして

所望の構造または機能を有するポリペプチドに関して選択されるポリペプチド類似体をスクリーニングする  
ことを包含する方法。

【請求項 3】

選定ポリペプチド類似体をコードするポリヌクレオチドを同定する過程をさらに包含する、請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

スクリーニングがポリペプチドを標的基質と接触することを包含し、ポリペプチドがポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと関連づけられ、ポリヌクレオチドが検出可能部分をさらに含み、したがって標的基質を結合し得る変異体ポリペプチドが検出され、それによりポリヌクレオチドによりコードされると同定される、請求項 2 記載の方法。

【請求項 5】

検出可能部分が蛍光部分、UV 部分および可視光吸收部分からなる群から選択される、請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

検出可能部分がビオチン部分、GST 部分およびHis タグ部分からなる群か選択される、請求項 4 記載の方法。

【請求項 7】

ポリヌクレオチドがリボソームディスプレーを用いてポリペプチド類似体と関連づけられる、請求項 4 記載の方法。

【請求項 8】

ポリペプチド内の2つまたはそれ以上の限定領域が突然変異化される、請求項 2 記載の方法。

【請求項 9】

同一予定アミノ酸が2またはそれ以上の各限定領域内の置換のために選択される、請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】

異なる予定アミノ酸がそれぞれ2またはそれ以上の各限定領域内の置換のために選択される、請求項 8 記載の方法。

【請求項 11】

ポリペプチドが一本鎖抗体 (sFv) である、請求項 2 記載の方法。

【請求項 12】

限定領域がポリペプチドの機能性ドメインを含む、請求項 2 記載の方法。

【請求項 13】

限定領域がCDR1、CDR2、CDR3、CDR4、CDR5、CDR6 およびその組合せからなる群から選択されるCDRまたはその部分を含む、請求項 2 記載の方法。

【請求項 14】

限定領域がFR1、FR2、FR3、FR4 およびその組合せからなる群から選択されるドメインを含む抗体フレームワーク領域である、請求項 2 記載の方法。

【請求項 15】

限定領域が補体結合部位およびFc 結合領域からなる群から選択されるドメインを含む抗体エフェクター領域である、請求項 2 記載の方法。

【請求項 16】

予定アミノ酸残基がSer、Thr、Asn、Gln、Tyr、Cys、His、Glu、Asp、Lys、Arg、Ala、Gly、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Trp およびVal からなる群から選択される、請求項 2 記載の方法。

【請求項 17】

1つまたは複数の限定領域を含むポリペプチド類似体をコードするポリヌクレオチドのライブラリーであって、予定アミノ酸残基が限定領域内の各アミノ酸位置で置換され、ポリヌクレオチドが集合的に以下の判定基準：

i ) 各ポリヌクレオチドが、限定領域中の各コドン位置に、ポリペプチドのアミノ酸残基に必要なコドンまたは予定アミノ酸残基に関するコドンを含有し、そして

ii ) 各ポリヌクレオチドが予定アミノ酸残基に関する1つ以下のコドンを含有する

に従って考え得る全ての変異体を表すライブラリー。

【請求項 18】

ポリペプチド内の2つまたはそれ以上の限定領域が突然変異化される、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 19】

同一予定アミノ酸が2つまたはそれ以上の各限定領域内での置換のために選択される、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 20】

異なる予定アミノ酸がそれぞれ2つまたはそれ以上の各限定領域内での置換のために選択される、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 21】

発現ライブラリーである、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 22】

発現ライブラリーがファージディスプレーライブラリー、リボソーム / ポリソームディスプレー ライブラリー、酵母ディスプレー ライブラリー、細菌ディスプレー ライブラリーおよびアレイ化ライブラリーからなる群から選択される、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 23】

ポリヌクレオチドが1つまたは複数の転写調節素子をさらに含む、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 24】

ポリヌクレオチドが、*in vitro*で転写および翻訳される場合、対応するポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドと関連づけられる、請求項 23 記載のライブラリー。

【請求項 25】

ポリヌクレオチドがリボソーム / ポリソームディスプレーを用いてポリペプチドと関係づけられる、請求項 24 記載のライブラリー。

【請求項 26】

ポリヌクレオチドがRNAを含む、請求項 25 記載のライブラリー。

【請求項 27】

ポリヌクレオチドが検出可能部分をさらに含む、請求項 26 記載のライブラリー。

【請求項 28】

検出可能部分が蛍光部分を含む、請求項 27 記載のライブラリー。

【請求項 29】

少なくとも $10^6$ の異なるポリヌクレオチドを含む、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 30】

少なくとも $45 \sim 10^{12}$ の異なるポリヌクレオチドを含む、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 31】

ポリペプチドが結合ポリペプチドをコードする、請求項 17 記載のライブラリー。

【請求項 32】

結合ポリペプチドが重鎖可変部 ( $V_H$ )、軽鎖可変部 ( $V_L$ ) および一本鎖抗体 (sFv) からなる群から選択される、請求項 31 記載のライブラリー。

【請求項 33】

ポリヌクレオチドが酵素をコードする、請求項 1 7 記載のライブラリー。

【請求項 3 4】

ポリヌクレオチドが酵素阻害剤をコードする、請求項 1 7 記載のライブラリー。

【請求項 3 5】

ポリヌクレオチドが触媒ポリペプチドをコードする、請求項 1 7 記載のライブラリー。

【請求項 3 6】

固体支持体上に固定される、請求項 1 7 記載のライブラリー。

【請求項 3 7】

固体支持体がマイクロチップである、請求項 1 7 記載のライブラリー。

【請求項 3 8】

アレイ化ライブラリーである、請求項 1 7 記載のライブラリー。