

【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18年1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2005-506064(P2005-506064A)

【公表日】平成17年3月3日(2005.3.3)

【年通号数】公開・登録公報2005-009

【出願番号】特願2003-517247(P2003-517247)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/705 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/705

C 0 7 K 16/00

C 0 7 K 16/46

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 21/08

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/566

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成17年8月1日(2005.8.1)

【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】

非一本鎖抗原結合ユニットであって、以下の：

(a) フレーム内で第一ヘテロ二量体化配列に融合している軽(L)鎖可変領域を含んでいる軽(L)鎖ポリペプチド；及び、

(b) フレーム内で第二ヘテロ二量体化配列に融合している重(H)鎖可変領域を含んでいる重(H)鎖ポリペプチド

を含んでなり、ここで、

前記 L 鎖ポリペプチドと前記 H 鎖ポリペプチドは、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化し、且つ前記ヘテロ二量体化配列の少なくとも一方が、生理学的緩衝条件下及び/又は生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、前記非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 2】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列の両方が、生理学的緩衝条件下及び生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、請求項 1 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 3】

非一本鎖抗原結合ユニットであって、以下の：

(a) フレーム内で第一ヘテロ二量体化配列に融合している軽 (L) 鎖可変領域を含んでいる軽 (L) 鎖ポリペプチド；及び、

(b) フレーム内で第二ヘテロ二量体化配列に融合している重 (H) 鎖可変領域を含んでいる重 (H) 鎖ポリペプチド

を含んでなり、ここで、

前記 L 鎖ポリペプチドと前記 H 鎖ポリペプチドは、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化し、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列が ヘテロ二量体性受容体のヘテロ二量体化を仲介するヘテロ二量体性受容体配列を含む、前記非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 4】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列が、コイルドコイル二量体を形成する、請求項 1 又は 3 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 5】

前記 L 鎖ポリペプチドと前記 H 鎖ポリペプチドが、前記 2 つのヘテロ二量体化配列の非共有結合性の対による親和性を介して二量体化する、請求項 1 又は 3 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 6】

前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の両方が、少なくとも一つのシステイン残基に連結している、請求項 4 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 7】

多価である、請求項 4 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 8】

多重特異性である、請求項 4 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 9】

前記 L 鎖ポリペプチドが、ヒト軽鎖由来の配列を含む、請求項 4 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 10】

前記 H 鎖ポリペプチドが、ヒト重鎖由来の配列を含む、請求項 4 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 11】

化学的機能性部分に結合している、請求項 4 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 12】

前記部分が、以下の：シグナルペプチド、免疫学的反応性を高める物質、固体支持体へのカップリングを容易にする物質、ワクチンキャリア、生物反応修飾物質、トキシン、検出可能な標識、常磁性標識及び薬物からなる群から選択されたものである、請求項 11 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項 13】

一本鎖結合ユニットであって、軽 (L) 鎖可変領域と重 (H) 鎖可変領域とを含み、前記軽 (L) 鎖可変領域と前記重 (H) 鎖可変領域が、前記領域の一方の C 末端と前記他の

領域のN末端の間の距離をまたがった第一ヘテロ二量体化配列と第二ヘテロ二量体化配列により接続されており、前記2つの領域が、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して分子内二量体を形成し、且つ前記ヘテロ二量体化配列の少なくとも一方が、生理学的緩衝条件下及び/又は生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、前記一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項14】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列の両方が、生理学的緩衝条件下及び生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、請求項13に記載の一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項15】

一本鎖抗原結合ユニットであって、軽(L)鎖可変領域と重(H)鎖可変領域とを含み、前記軽(L)鎖可変領域と前記重(H)鎖可変領域が、前記領域の一方のC末端と前記他の領域のN末端の間の距離をまたがった第一ヘテロ二量体化配列と第二ヘテロ二量体化配列により接続されており、前記2つの領域が、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して分子内二量体を形成し、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列がヘテロ二量体性受容体のヘテロ二量体化を仲介するヘテロ二量体性受容体配列を含む、前記一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項16】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列が、コイルドコイル二量体を形成する、請求項13又は15に記載の一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項17】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列が、非共有結合性の対による親和性を介して二量体化している、請求項13又は15に記載の一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項18】

化学的機能性部分に結合している、請求項16に記載の一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項19】

前記L鎖可変領域が、ヒト軽鎖由来の配列を含む、請求項16に記載の一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項20】

前記H鎖可変領域が、ヒト重鎖由来の配列を含む、請求項16に記載の一本鎖抗原結合ユニット。

【請求項21】

請求項1又は3に記載のL鎖ポリペプチドをコードするコード配列を含む、組み換えポリヌクレオチド。

【請求項22】

請求項1又は3に記載のH鎖ポリペプチドをコードするコード配列を含む、組み換えポリヌクレオチド。

【請求項23】

請求項13に記載の一本鎖抗原結合ユニットをコードするコード配列を含む、組み換えポリヌクレオチド。

【請求項24】

請求項15に記載の一本鎖抗原結合ユニットをコードするコード配列を含む、組み換えポリヌクレオチド。

【請求項25】

請求項21～24のいずれか1項に記載の組み換えポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項26】

請求項25に記載のベクターを1以上含む、抗原結合ユニットのレパートリーをコードしている、発現ベクターの選択可能なライブラリー。

## 【請求項 27】

請求項 21 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の組み換えポリヌクレオチドを含む、宿主細胞。

## 【請求項 28】

非一本鎖抗原結合ユニットの製造方法であって、以下のステップ：

(a) フレーム内で第一ヘテロ二量体化配列に融合した軽(L)鎖可変領域を含んでいる、軽(L)鎖ポリペプチドをコードしている第一組み換えポリヌクレオチドと、フレーム内で第二ヘテロ二量体化配列に融合した重(H)鎖可変領域を含んでいる、重(H)鎖ポリペプチドをコードしている第二組み換えポリヌクレオチドとを、宿主細胞内で発現させるステップであって、ここで、前記 L 鎖ポリペプチドと前記 H 鎖ポリペプチドが、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化し、且つ前記ヘテロ二量体化配列の少なくとも一方が、生理学的緩衝条件下及び/又は生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、前記ステップ；及び場合により、

(b) 前記宿主細胞において発現された前記抗原結合ユニットを分離するステップを含む、前記方法。

## 【請求項 29】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列の両方が、生理学的緩衝条件下及び生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、請求項 28 に記載の方法。

## 【請求項 30】

非一本鎖抗原結合ユニットの製造方法であって、以下のステップ：

(a) 第一ヘテロ二量体化配列に融合した軽(L)鎖可変領域を含んでいる、軽(L)鎖ポリペプチドをコードしている第一組み換えポリヌクレオチドと、第二ヘテロ二量体化配列に融合した重(H)鎖可変領域を含んでいる、重(H)鎖ポリペプチドをコードしている第二組み換えポリヌクレオチドとを、宿主細胞内で発現させるステップであって、前記 L 鎖ポリペプチドと前記 H 鎖ポリペプチドが、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化し、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列が、前記受容体のヘテロ二量体化を仲介するヘテロ二量体性受容体配列を含む、前記ステップ；及び、場合により、

(b) 前記宿主細胞において発現された前記抗原結合ユニットを分離するステップを含む、前記方法。

## 【請求項 31】

非一本鎖抗原結合ユニットの製造方法であって、以下のステップ：

(a) フレーム内で第一ヘテロ二量体化配列に融合した軽(L)鎖可変領域を含んでいる、軽(L)鎖ポリペプチドをコードしている第一組み換えポリヌクレオチドと、フレーム内で第二ヘテロ二量体化配列に融合した重(H)鎖可変領域を含んでいる、重(H)鎖ポリペプチドをコードしている第二組み換えポリヌクレオチドとを調製するステップであって、ここで、前記 L 鎖ポリペプチドと前記 H 鎖ポリペプチドが、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化し、且つ前記ヘテロ二量体化配列の少なくとも一方が、生理学的緩衝条件下及び/又は生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、前記ステップ；及び

(b) 前記第一ポリペプチド及び前記第二ポリペプチドを、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化させるステップを含む、前記方法。

## 【請求項 32】

一本鎖抗原結合ユニットの製造方法であって、以下のステップ：

(a) 請求項 13 又は 15 に記載の前記一本鎖抗原結合ユニットをコードしているコード配列を含むポリヌクレオチドを宿主細胞において発現させるステップ；及び場合により、

(b) 前記宿主細胞において発現された前記一本鎖抗原結合ユニットを分離するステッ

ブ

を含む、前記方法。

【請求項 3 3】

宿主細胞の表面上に少なくとも 2 つのポリペプチドを含むキメラヘテロ多量体をディスプレイする方法であって、以下のステップ：

前記宿主細胞において、

(a) フレーム内において第一ヘテロ二量体化配列及び表面提示配列に融合している、第一ポリペプチドをコードしている第一組み換えポリヌクレオチド；

(b) フレーム内において第二ヘテロ二量体化配列に融合している第二ポリペプチドをコードしている第二組み換えポリヌクレオチド

を発現させるステップを含み、ここで、

前記第一ポリペプチドと前記第二ポリペプチドが、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化し、且つ前記ヘテロ二量体化配列の少なくとも一方が、生理学的緩衝条件下及び/又は生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、前記方法。

【請求項 3 4】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列の両方が、生理学的緩衝条件下及び生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列が、コイルドコイル二量体を形成する、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記第一ポリヌクレオチド及び前記第二ポリヌクレオチドが、単一のファージディスプレイベクターにより発現される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記第一ポリヌクレオチド及び前記第二ポリヌクレオチドが、別々のファージディスプレイベクターにより発現される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 8】

所望の抗原と免疫反応性である非一本鎖抗原結合ユニットを同定する方法であって、以下のステップ：

(a) 抗原結合ユニットの遺伝学的に多様なレパートリーを調製するステップであって、前記レパートリーが請求項 1 又は 3 に記載の抗原結合ユニットを 1 以上含む、前記ステップ；

(b) 抗原結合ユニットの前記レパートリーを前記所望の抗原と接触させるステップ；及び

(c) 抗原結合ユニットと前記抗原との間の特異的結合を検出することにより、前記所望の抗原と免疫反応性である前記抗原結合ユニットを同定するステップを含む、前記方法。

【請求項 3 9】

所望の抗原と免疫反応性である一本鎖抗原結合ユニットを同定する方法であって、以下のステップ：

(a) 一本鎖抗原結合ユニットの遺伝学的に多様なレパートリーを調製するステップであって、前記レパートリーが請求項 1 3 又は 1 5 に記載の抗原結合ユニットを 少なくとも一つ含む、前記ステップ；及び

(b) 抗原結合ユニットの前記レパートリーを前記所望の抗原と接触させるステップ；及び

(c) 抗原結合ユニットと前記抗原との間の特異的結合を検出することにより、前記所望の抗原と免疫反応性である前記一本鎖抗原結合ユニットを同定するステップを含む、前記方法。

## 【請求項 40】

好適なパッケージングに請求項 25 に記載のベクターを含むキット。

## 【請求項 41】

前記第一ヘテロ二量体化配列及び前記第二ヘテロ二量体化配列が、等モル混合したときにホモ二量体を基本的に形成できない、請求項 1 に記載の非一本鎖抗原結合ユニット。

## 【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

本発明のさらに別の態様によれば、非一本鎖抗原結合ユニットの製造方法が提供される。この方法は、以下のステップ：(a) 第一ヘテロ二量体化配列に融合した軽(L)鎖可変領域を含んでいる、軽(L)鎖ポリペプチドをコードしている第一組み換えポリヌクレオチドと、第二ヘテロ二量体化配列に融合した重(H)鎖可変領域を含んでいる、重(H)鎖ポリペプチドをコードしている第二組み換えポリヌクレオチドとを、宿主細胞で発現するステップであって、前記L鎖ポリペプチドと前記H鎖ポリペプチドは、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化し、且つ前記ヘテロ二量体化配列の少なくとも一方が、生理学的緩衝条件下及び/又は生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、前記ステップと；そして、場合により(b) 前記宿主細胞において発現された抗原結合ユニットを分離するステップを含む。

## 【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0024】

本発明のさらに別の実施態様によれば、非一本鎖抗原結合ユニットの製造方法が提供される。この方法には、以下のステップ：(a) 第一ヘテロ二量体化配列に融合した軽(L)鎖可変領域を含んでいる、軽(L)鎖ポリペプチドをコードしている第一組み換えポリヌクレオチドと、第二ヘテロ二量体化配列に融合した重(H)鎖可変領域を含んでいる、重(H)鎖ポリペプチドをコードしている第二組み換えポリヌクレオチドとを調製するステップであって、前記L鎖ポリペプチドと前記H鎖ポリペプチドは、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化し、且つ前記ヘテロ二量体化配列の少なくとも一方が、生理学的緩衝条件下及び/又は生理学的体温でホモ二量体を基本的に形成できない、前記ステップと；そして、(b) 前記第一ポリペプチド及び前記第二ポリペプチドを、前記第一ヘテロ二量体化配列と前記第二ヘテロ二量体化配列の対による親和性を介して二量体化させるステップ、を含む。二量体化のステップは、生体外でおこなってもよいし、生体内でおこなってもよい。