

【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3月6日(2008.3.6)

【公表番号】特表2007-533304(P2007-533304A)

【公表日】平成19年11月22日(2007.11.22)

【年通号数】公開・登録公報2007-045

【出願番号】特願2006-551336(P2006-551336)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 4 0 B 40/08 (2006.01)

C 4 0 B 40/10 (2006.01)

C 0 7 K 1/107 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 4 0 B 30/04 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 4 0 B 40/08

C 4 0 B 40/10

C 0 7 K 1/107

C 0 7 K 16/00

C 0 7 K 16/46

A 6 1 K 39/395 B

A 6 1 P 43/00 1 0 5

C 4 0 B 30/04

【手続補正書】

【提出日】平成20年1月21日(2008.1.21)

【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】

以下を含む、参照抗体の結合特異性を有する抗体を作製する方法：

a) 該参照抗体からの重鎖CDR3結合特異性決定基(BSD)をV_Hセグメントの多様な集団と接続し、それによって、異なるヒトV_Hセグメントに連結する、該参照抗体の重鎖CDR3 BSDを有する構成員を含むV_H領域のライブラリーを作出する段階；

b) 該参照抗体からの軽鎖CDR3 BSDをヒトV_Lセグメントの多様な集団と接続し、それによって、異なるヒトV_Hセグメントに連結する、該参照抗体の軽鎖CDR3 BSDを有する構成員を含むV_L領域のライブラリーを作出する段階；

c) 段階aのライブラリーと段階bのライブラリーとを組み合わせ、該参照抗体の重鎖CDR3 BSDおよび該参照抗体の軽鎖CDR3 BSDを有する、多様なV_H領域および多様なV_L領域を含む抗体ライブラリーを作出する段階；および

d) 該参照抗体と同じ抗原と結合する段階cのライブラリーの構成員を単離する段階。

【請求項2】

ヒトV_Hセグメントの多様な集団および／またはヒトV_Lセグメントの多様な集団が、ヒト生殖細胞系である、請求項1記載の方法。

【請求項3】

(d) で選択された抗体のCDR3の少なくとも一つに突然変異を誘発する段階；および (d) で選択された該抗体よりも抗原に対して高い親和性を有する抗体を選択する段階をさらに含む、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】

ヒトV_Hセグメントの多様な集団が一つのVセグメントサブクラスからのものであり；かつ／または、ヒトV_Lセグメントの多様な集団が一つのVセグメントサブクラスからのものである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項5】

参照抗体からのCDR3 BSDの少なくとも一つが、該参照抗体からのCDR3-FR4セグメントである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

FR4がヒト生殖細胞系FR4である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

FR4が多様なヒトFR4配列のライブラリーである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項8】

Jセグメントがヒト抗体Jセグメントである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

重鎖CDR3 BSDが参照抗体の重鎖CDR3であり、かつ／または軽鎖CDR3 BSDが該参照抗体の軽鎖CDR3である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項10】

参照抗体からの重鎖CDR3 BSDがDセグメントである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

参照抗体からのCDR3 BSDの少なくとも一つが最低限必須な結合特異性決定基 (MEBSD) である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

段階 (c) のライブラリーの構成員を単離する段階が、参照抗体と同じかまたはそれよりも高い親和性で抗原と結合するライブラリーの構成員を同定するスクリーニング段階を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

参照抗体が非ヒト抗体である、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項14】

ライブラリーを組み合わせる段階が、V_H領域のライブラリーおよびV_L領域のライブラリーを単一の発現ベクター上で発現させる段階を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項15】

V_HライブラリーおよびV_Lライブラリーが別々のプロモーターを使用して発現される、請求項14記載の方法。

【請求項16】

ライブラリーを組み合わせる段階が、V_H領域のライブラリーおよびV_L領域のライブラリーを二つの発現ベクター上で発現させる段階を含む、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

【請求項17】

段階 (c) のヒト抗体ライブラリーが抗体を含み、該抗体が、IgG、Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、一本鎖Fv、または一つもしくは複数のドメインの欠失を有するIgGである、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項 18】

ライブラリーの構成員を単離する段階が以下を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法：

コロニーリフト結合アッセイを使用してスクリーニングする段階；または
バクテリオファージディスプレイ、酵母細胞ディスプレイ、細菌細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイおよび哺乳動物細胞ディスプレイからなる群より選択されるディスプレイ技術を使用してスクリーニングする段階。

【請求項 19】

ライブラリーの構成員を単離する段階が、ライブラリーの構成員のプールをスクリーニングする段階を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項 20】

以下をさらに含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法：

- e) (d) により選択された複数の構成員からの重鎖V領域を、参照抗体の軽鎖CDR3 BSDを有するヒトV_L領域のライブラリーと組み合わせる段階；および
- f) 該参照抗体と同じ抗原に結合する構成員を選択する段階。

【請求項 21】

以下をさらに含む、請求項1~19のいずれか一項記載の方法：

- e) (d) により選択された複数の構成員からの軽鎖V領域を、参照抗体の重鎖CDR3 BSDを有するヒトV_H領域のライブラリーと組み合わせる段階；および
- f) 該参照抗体と同じ抗原に結合する構成員を選択する段階。

【請求項 22】

以下をさらに含む、請求項1~19のいずれか一項記載の方法：

- e) (d) により選択された複数の構成員からの重鎖V領域を、(d) により選択された複数の構成員からの軽鎖V領域と組み合わせる段階；および
- f) 該参照抗体と同じ抗原に結合する構成員を選択する段階。

【請求項 23】

以下を含む、参照抗体の結合特異性を有する抗体を作製する方法：

- a) 該参照抗体の重鎖からのCDR3 BSDをヒトV_Hセグメントの多様な集団と接続し、それによって該参照抗体の重鎖CDR3からのBSDを有する多様なV_H領域を含む集団を作出する段階；
- b) 段階aの集団を、該参照抗体からの軽鎖CDR3 BSDと接続したヒト生殖細胞系サブクラスVセグメントを含むV_Lと組み合わせて抗体ライブラリーを作出する段階；および
- c) 該参照抗体と同じ抗原と結合する段階**b**のライブラリーの構成員を単離する段階。

【請求項 24】

ヒトV_H領域の多様な集団が生殖細胞系V_Hセグメントを含む、請求項23記載の方法。

【請求項 25】

V_LのJセグメント領域がヒト生殖細胞系配列である、請求項23記載の方法。

【請求項 26】

以下を含む、参照抗体の結合特異性を有する抗体を作製する方法：

- a) 該参照抗体の軽鎖からのCDR3 BSDをヒトV_Lセグメントの多様な集団と接続し、それによって該参照抗体の軽鎖CDR3からのBSDを有する多様なV_L領域を含む集団を作出する段階；
- b) 段階aの集団を、該参照抗体からのCDR3 BSDと接続したヒト生殖細胞系サブクラスVセグメントを含むV_Hと組み合わせて抗体ライブラリーを作出する段階；および
- c) 該参照抗体と同じ抗原と結合する段階**b**のライブラリーの構成員を単離する段階。

【請求項 27】

ヒトV_L領域の多様な集団が生殖細胞系V_Lセグメントを含む、請求項26記載の方法。

【請求項 28】

CDR3 BSDと接続したヒトサブクラスVセグメントを含むV_HのJセグメント領域がヒト生殖細胞系配列である、請求項26記載の方法。

【請求項 29】

参照抗体からのCDR3 BSDの少なくとも一つが最低限必須な結合特異性決定基である、請求項23または26記載の方法。

【請求項 30】

参照抗体の重鎖からのCDR3 BSDがDセグメントである、請求項23または26記載の方法。

【請求項 31】

参照抗体からのCDR3 BSDの少なくとも一つがCDR3である、請求項23または26記載の方法。

【請求項 32】

以下を含む、参照抗体の結合特異性を有する抗体を作製する方法：

- a) 該参照抗体の軽鎖CDR3からのMEBSDをヒトV_Lセグメントの多様な集団と接続し、それによって該参照抗体の軽鎖CDR3 BSDを有する多様なV_L領域を含む集団を作出する段階；
- b) 段階aの集団を該参照抗体からのV_H領域と組み合わせて抗体ライブラリーを作出する段階；および
- c) 該参照抗体と同じ抗原と結合する、段階cのライブラリーの構成員を単離する段階。

【請求項 33】

以下をさらに含む、請求項32記載の方法：

- d) 参照抗体からの重鎖CDR3からのBSDをヒトV_Hセグメントの多様な集団と接続し、それによって該参照抗体の重鎖CDR3 BSDを有する多様なV_H領域を含む集団を作出する段階；
- e) (c) で単離された抗体からのV_L領域の集団を提供する段階；
- f) 段階(d)の集団および段階(e)の集団を組み合わせて抗体ライブラリーを作出する段階；および
- g) 該参照抗体と同じ抗原と結合する段階(f)のライブラリーの構成員を単離する段階。

【請求項 34】

(a) のヒトV_Lセグメントの多様な集団が生殖細胞系である、請求項32または請求項33記載の方法。

【請求項 35】

以下を含む、参照抗体の結合特異性を有する抗体を作製する方法：

- a) 該参照抗体の重鎖CDR3からのMEBSDをヒトV_Hセグメントの多様な集団と接続し、それによって該参照抗体の重鎖CDR3 BSDを有する多様なV_H領域を含む集団を作出する段階であって、ここで、該BSDが最低限必須な結合特異性決定基、Dセグメント、およびDセグメント-FR4からなる群より選択される段階；
- b) 段階aの集団を、該参照抗体からのV_L領域と組み合わせて抗体ライブラリーを産生する段階；および
- c) 該参照抗体と同じ抗原と結合する (b) のライブラリーの構成員を単離する段階。

【請求項 36】

以下をさらに含む、請求項35記載の方法：

- d) 参照抗体の軽鎖からのCDR3からのBSDをヒトV_Lセグメントの多様な集団と接続し、それによって該参照抗体の軽鎖CDR3 BSDを有する多様なV_L領域を含む集団を作出する段階；
- e) (d) で単離された抗体からのV_H領域の集団を提供する段階；
- f) 段階(d)の集団と段階(e)の集団とを組み合わせて抗体ライブラリーを作出する段階；および
- g) 該参照抗体と同じ抗原と結合する (f) のライブラリーの構成員を単離する段階。

【請求項 37】

(a) のヒトV_Hセグメントの多様な集団が生殖細胞系である、請求項35または36記載の方法。

【請求項 38】

以下をさらに含む、請求項34または37記載の方法：

- (g) で選択された抗体のCDR3の少なくとも一つに突然変異を誘発する段階；および (g)

）で選択された該抗体よりも抗原に対して高い親和性を有する抗体を選択する段階。

【請求項 39】

ヒト抗体V領域ペアをコードする核酸を含むライブラリーであって、ここで、 V_H および V_L のVセグメントがそれぞれ参照抗体からのMEBSDと連結しているライブラリー。

【請求項 40】

ヒトVセグメント、非ヒト参照抗体からのDセグメントおよびヒトJセグメントを含む V_H 領域を含む抗体。

【請求項 41】

ヒト生殖細胞系Vセグメントを有する V_H 領域および参照抗体からの重鎖CDR3からのMEBSDとを含む抗体。

【請求項 42】

ヒト生殖細胞系Vセグメントおよび参照細胞からの軽鎖CDR3からのBSDとを有する V_L 領域を含む抗体。