

【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 3 部門第 2 区分

【発行日】平成26年7月3日(2014.7.3)

【公表番号】特表2013-533865(P2013-533865A)

【公表日】平成25年8月29日(2013.8.29)

【年通号数】公開・登録公報2013-046

【出願番号】特願2013-515529(P2013-515529)

【国際特許分類】

C 4 0 B 40/10 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

C 4 0 B 30/04 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 4 0 B 40/10

G 0 1 N 33/53 N

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 37/00 1 0 2

C 4 0 B 30/04

C 0 7 K 16/18

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成26年5月15日(2014.5.15)

【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】

複数の異なる抗体を含む抗体のライブラリーであって、前記複数の異なる抗体のうちの少なくとも 10 % が、同じプラットフォームにより作製され、前記同じプラットフォームにより作成された前記複数の抗体のうちの各抗体が、

( a ) 単一特異性抗体であるか、

( b ) その標的タンパク質に対する結合アフィニティーが少なくとも  $10^{-7}$  M (  $K_D$  ) であるか、

( c ) 免疫沈降抗体であるか、または

( d ) その標的タンパク質の天然形態に結合する、  
抗体のライブラリー。

【請求項 2】

前記複数の異なる抗体のうちの少なくとも 20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、95 %、99 %、または 100 % が、前記同じプラットフォームにより作製される、請求項 1 に記載のライブラリー。

【請求項 3】

前記複数の異なる抗体が少なくとも 50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、7

0 0、7 2 5、7 5 0、7 7 5、8 0 0、8 2 5、8 5 0、8 7 5、9 0 0、または 1 0 0 0の異なる抗体を含む、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項 4】

前記複数の異なる抗体がヒトプロテオームのうちの少なくとも 0 . 5 %、1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 1 %、1 2 %、1 3 %、1 4 %、1 5 %、1 6 %、1 7 %、1 8 %、1 9 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、または 1 0 0 %に結合する、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項 5】

前記複数の異なる抗体が表 5 に列挙されるヒトタンパク質のうちの少なくとも 0 . 5 %、1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 1 %、1 2 %、1 3 %、1 4 %、1 5 %、1 6 %、1 7 %、1 8 %、1 9 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、または 1 0 0 % に結合する、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項 6】

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの少なくとも 1 0 %の前記異なる抗体が有する、その標的に対する結合アフィニティーが、前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの別の抗体の結合アフィニティーの少なくとも 2 0 % 以内である、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項 7】

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体がモノクローナル抗体である、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項 8】

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体が I g G 抗体である、請求項1に記載のライブラリー。

【請求項 9】

請求項1に記載の抗体のライブラリーを含むアレイであって、前記複数の抗体のうちの各抗体が基材上に固定化されているアレイ。

【請求項 1 0】

前記基材が平面である、請求項9に記載のアレイ。

【請求項 1 1】

前記基材が粒子である、請求項9に記載のアレイ。

【請求項 1 2】

前記基材が固体材料を含む、請求項9に記載のアレイ。

【請求項 1 3】

前記基材が多孔性材料を含む、請求項9に記載のアレイ。

【請求項 1 4】

前記固定化が可逆性である、請求項9に記載のアレイ。

【請求項 1 5】

前記固定化が不可逆性である、請求項9に記載のアレイ。

【請求項 1 6】

複数の異なる抗体のライブラリーを作製する方法であって、前記複数の異なる抗体のうちの少なくとも 1 0 % が、同じプラットフォームにより作製され、前記方法は、

- a ) 動物を、複数の抗原で免疫化するステップと、
- b ) 抗体生成細胞を、前記動物から単離するステップと、
- c ) 複数の抗体を、前記抗体生成細胞から単離するステップと、
- d ) c ) の前記複数の抗体を、ヒトプロテオームアレイによりスクリーニングするステップと、
- e ) 前記プロテオームアレイ上の単一の標的に単一特異性である抗体を、前記ライブラリーのために選択するステップと

を含む方法。

【請求項 17】

c) の前に、前記抗体生成細胞に由来する前記複数の抗体をプレスクリーニングするステップをさらに含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記プレスクリーニングするステップが、免疫細胞化学を実施することによるか、または前記抗体生成細胞に由来する抗体の、1または複数の標的抗原を含む混合物との結合を決定することによる、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記複数の抗原が生物学的試料、粗溶解物、細胞、タンパク質、ペプチド、または核酸を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 20】

前記複数の抗原が、少なくとも 11, 000、12, 000、13, 000、14, 000、15, 000、16, 000、17, 000、18, 000、19, 000、または 20, 000 の異なる抗原を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 21】

前記複数の抗原が、ヒトプロテオームのうちの少なくとも 0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、または 100% を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 22】

前記選択された抗体を基材へと固定化するステップをさらに含む、請求項 16 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0056

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0056】

本明細書ではまた、標的を検出する方法であって、(a) 標的を、抗体のライブラリー、または抗体のライブラリーを含むアレイと接触させるステップと、(b) 前記標的と、前記複数の抗体との結合の存在または非存在を決定するステップと、(c) 標的が、ライブラリーの少なくとも1つの抗体に結合する場合に、標的を検出するステップとを含む方法が提供される。ライブラリーは、複数の異なる抗体を含むことが可能であり、複数の異なる抗体のうちの少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、または100%が、同じプラットフォームから作製される場合もあり、単一特異性抗体である場合もあり、その標的タンパク質の天然形態に結合する場合もあり、モノクローナル抗体である場合もあり、免疫沈降抗体である場合もあり、IgG抗体またはIgGアイソタイプ抗体である場合もあり、その標的に対する結合アフィニティーが、同じプラットフォームにより作製された複数の抗体のうちの別の抗体の結合アフィニティーの少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、または19%以内など、少なくとも20%以内である場合もあり、その標的に対する結合アフィニティーが、少なくとも $10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  M、 $10^{-10}$  M、 $10^{-11}$  M、 $10^{-12}$  M、 $10^{-13}$  M、 $10^{-14}$  M、 $10^{-15}$  M、または $10^{-16}$  Mなど、少なくとも $10^{-7}$  M ( $K_D$ ) である場合もあり、またはこれらの任意の組合せである場合もある。一部の実施形態では、方法が、複数の標的を検出するステップをさらに含む。一部の実施形態では、方法が、50、7

5、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、800、825、850、875、900、または1000の異なる標的を検出するステップを含む。一部の実施形態では、方法が、1または複数の標的のレベルを検出するステップを含む。

本発明の好ましい実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

複数の異なる抗体を含む抗体のライブラリーであって、前記複数の異なる抗体のうちの少なくとも10%が、同じプラットフォームにより作製される、抗体のライブラリー。

(項目2)

前記複数の異なる抗体のうちの少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、または100%が、前記同じプラットフォームにより作製される、項目1に記載のライブラリー。

(項目3)

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体が単一特異性抗体である、項目1から2に記載のライブラリー。

(項目4)

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体の、その標的タンパク質に対する結合アフィニティーが少なくとも $10^{-7}$  M ( $K_D$ )である、項目1から3に記載のライブラリー。

(項目5)

前記結合アフィニティーが、少なくとも $10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  M、 $10^{-10}$  M、 $10^{-11}$  M、 $10^{-12}$  M、 $10^{-13}$  M、 $10^{-14}$  M、 $10^{-15}$  M、または $10^{-16}$  Mである、項目4に記載のライブラリー。

(項目6)

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体がその標的タンパク質の天然形態に結合する、項目1から5に記載のライブラリー。

(項目7)

前記複数の異なる抗体が少なくとも50の異なる抗体を含む、項目1から6に記載のライブラリー。

(項目8)

前記複数の異なる抗体が少なくとも75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、800、825、850、875、900、または1000の異なる抗体を含む、項目7に記載のライブラリー。

(項目9)

前記複数の異なる抗体がヒトプロテオームのうちの少なくとも0.5%に結合する、項目1から8に記載のライブラリー。

(項目10)

前記複数の異なる抗体が、ヒトプロテオームのうちの少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%に結合する、項目9に記載の抗体のライブラリー。

(項目11)

前記複数の異なる抗体が表5に列挙されるヒトタンパク質のうちの少なくとも0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%に

結合する、項目 1 から 10 に記載のライブラリー。

(項目 12)

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体が有する、その標的に対する結合アフィニティーが、前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの別の抗体の結合アフィニティーの少なくとも 20 % 以内である、項目 1 から 11 に記載のライブラリー。

(項目 13)

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体が有する、その標的に対する結合アフィニティーが、前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの別の抗体の結合アフィニティーの少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、または 19 % 以内である、項目 12 に記載のライブラリー。

(項目 14)

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体がモノクローナル抗体である、項目 1 から 13 に記載のライブラリー。

(項目 15)

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体が免疫沈降抗体である、項目 1 から 14 に記載のライブラリー。

(項目 16)

前記同じプラットフォームにより作製される前記複数の抗体のうちの各抗体が I g G 抗体である、項目 1 から 15 に記載のライブラリー。

(項目 17)

項目 1 から 16 に記載の抗体のライブラリーを含むアレイであって、各抗体が基材上に固定化されているアレイ。

(項目 18)

前記基材が平面である、項目 17 に記載のアレイ。

(項目 19)

前記基材が粒子である、項目 17 に記載のアレイ。

(項目 20)

前記基材が固体材料を含む、項目 17 から 19 に記載のアレイ。

(項目 21)

前記基材が多孔性材料を含む、項目 17 から 19 に記載のアレイ。

(項目 22)

前記固定化が可逆性である、項目 17 から 21 に記載のアレイ。

(項目 23)

前記固定化が不可逆性である、項目 17 から 21 に記載のアレイ。

(項目 24)

項目 1 から 16 に記載のライブラリーを作製する方法であって、

a) 動物を、複数の抗原で免疫化するステップと、

b) 抗体生成細胞を、前記動物から単離するステップと、

c) 複数の抗体を、前記抗体生成細胞から単離するステップと、

d) ステップ c) の前記複数の抗体を、ヒトプロテオームアレイによりスクリーニングするステップと、

e) 前記プロテオームアレイ上の単一の標的に単一特異性である抗体を、前記ライブラリーのために選択するステップと

を含む方法。

(項目 25)

ステップ c) の前に、前記抗体生成細胞に由来する前記複数の抗体をプレスクリーニングするステップをさらに含む、項目 24 に記載の方法。

(項目 26)

前記プレスクリーニングするステップが、免疫細胞化学を実施することによる、項目 2 5 に記載の方法。

(項目 2 7)

前記プレスクリーニングするステップが、前記抗体生成細胞に由来する抗体の、1 または複数の標的抗原を含む混合物との結合を決定することによる、項目 2 5 に記載の方法。

(項目 2 8)

前記混合物が、粗溶解物、細胞、タンパク質、ペプチド、または核酸を含む、項目 2 7 に記載の方法。

(項目 2 9)

前記混合物が生物学的試料を含む、項目 2 7 に記載の方法。

(項目 3 0)

前記複数の抗原が、粗溶解物、細胞、タンパク質、ペプチド、または核酸を含む、項目 2 4 から 2 9 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記複数の抗原が生物学的試料を含む、項目 2 4 から 2 9 に記載の方法。

(項目 3 2)

前記生物学的試料が、組織、血液、血清、血漿、尿、脳脊髄液 (CSF)、痰、唾液、骨髓、滑液、房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー液、尿道球腺液、女性射精液、汗、涙液、囊胞液、胸膜液、腹腔液、心膜液、リンパ、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、経血、膿、皮脂、膈分泌物、粘膜分泌物、糞便水分、腓液、副鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引物、胚盤胞液、または臍帯血である、項目 2 9 および 3 1 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記複数の抗原が、少なくとも 1 1 , 0 0 0 の異なる抗原を含む、項目 2 4 から 3 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

前記複数の抗原が、少なくとも 1 2 , 0 0 0 、 1 3 , 0 0 0 、 1 4 , 0 0 0 、 1 5 , 0 0 0 、 1 6 , 0 0 0 、 1 7 , 0 0 0 、 1 8 , 0 0 0 、 1 9 , 0 0 0 、または 2 0 , 0 0 0 の異なる抗原を含む、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 5)

前記複数の抗原が、ヒトプロテオームのうちの少なくとも 0 . 5 % を含む、項目 2 4 から 3 2 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記複数の抗原が、ヒトプロテオームのうちの少なくとも 1 % 、 2 % 、 3 % 、 4 % 、 5 % 、 6 % 、 7 % 、 8 % 、 9 % 、 1 0 % 、 1 1 % 、 1 2 % 、 1 3 % 、 1 4 % 、 1 5 % 、 1 6 % 、 1 7 % 、 1 8 % 、 1 9 % 、 2 0 % 、 2 5 % 、 3 0 % 、 3 5 % 、 4 0 % 、 4 5 % 、 5 0 % 、 6 0 % 、 7 0 % 、 8 0 % 、 9 0 % 、または 1 0 0 % を含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記抗体生成細胞が B 細胞である、項目 2 4 から 3 6 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記抗体を基材へと固定化するステップをさらに含む、項目 2 4 から 3 7 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記基材が平面である、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記基材が粒子である、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 1)

前記基材が固体材料を含む、項目 3 8 から 4 0 に記載の方法。

(項目 4 2)

前記基材が多孔性材料を含む、項目 3 8 から 4 0 に記載の方法。

( 項目 4 3 )

前記固定化が可逆性である、項目 3 8 から 4 2 に記載の方法。

( 項目 4 4 )

前記固定化が不可逆性である、項目 3 8 から 4 2 に記載の方法。

( 項目 4 5 )

ヒトタンパク質に単一特異性である抗体を同定する方法であって、

a ) 複数の抗体を、ヒトプロテオームアレイと接触させるステップと、

b ) 前記複数の抗体と、前記ヒトプロテオームアレイ上に存在する標的との結合を決定するステップと、

c ) 抗体が前記プロテオームアレイ上の単一の標的に結合する場合に、前記抗体を単一特異性と同定するステップと  
を含む方法。

( 項目 4 6 )

前記ヒトプロテオームアレイが、ヒトプロテオームのうちの少なくとも 0 . 5 % を含む、項目 2 4 から 4 5 に記載の方法。

( 項目 4 7 )

前記ヒトプロテオームアレイが、ヒトプロテオームのうちの少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 1 %、1 2 %、1 3 %、1 4 %、1 5 %、1 6 %、1 7 %、1 8 %、1 9 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、または 1 0 0 % を含む、項目 4 6 に記載の方法。

( 項目 4 8 )

前記ヒトプロテオームアレイが、表 5 に列挙されるヒトタンパク質のうちの少なくとも 0 . 5 %、1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 1 %、1 2 %、1 3 %、1 4 %、1 5 %、1 6 %、1 7 %、1 8 %、1 9 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、または 1 0 0 % を含む、項目 2 4 から 4 7 に記載の方法。

( 項目 4 9 )

標的に対する抗体を同定する方法であって、

a ) 標的を、項目 1 から 1 6 に記載の抗体のライブラリーと接触させるステップと、

b ) 前記標的と、前記複数の抗体との結合を決定するステップと、

c ) 前記標的が、前記ライブラリーの抗体に結合する場合に、前記標的に対する抗体を同定するステップと  
を含む方法。

( 項目 5 0 )

標的に対する抗体を同定する方法であって、

a ) 標的を、項目 1 7 から 2 3 に記載のアレイと接触させるステップと、

b ) 前記標的と、前記複数の抗体との結合を決定するステップと、

c ) 前記標的が、前記アレイの抗体に結合する場合に、前記標的に対する抗体を同定するステップと  
を含む方法。

( 項目 5 1 )

標的を同定する方法であって、

a ) 標的を、項目 1 から 1 6 に記載の抗体のライブラリーと接触させるステップと、

b ) 前記標的と、前記複数の抗体との結合を決定するステップと、

c ) 前記標的が、前記ライブラリーの抗体に結合する場合に、前記標的を同定するステップと  
を含む方法。

( 項目 5 2 )

標的を同定する方法であって、

- a) 標的を、項目 17 から 23 に記載のアレイと接触させるステップと、
- b) 前記標的と、前記複数の抗体との結合を決定するステップと、
- c) 前記標的が、前記アレイの抗体に結合する場合に、前記標的を同定するステップとを含む方法。