

【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30年11月29日 (2018.11.29)

【公表番号】特表2017-536114(P2017-536114A)

【公表日】平成29年12月7日 (2017.12.7)

【年通号数】公開・登録公報2017-047

【出願番号】特願2017-524014(P2017-524014)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/02	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(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 N	5/10	(2006.01)
C 0 7 K	16/18	(2006.01)
C 4 0 B	40/08	(2006.01)
A 6 1 K	38/17	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
G 0 1 N	33/543	(2006.01)
G 0 1 N	33/574	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N	15/00	C
C 1 2 P	21/08	Z N A
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 N	5/10	
C 0 7 K	16/18	
C 4 0 B	40/08	
A 6 1 K	38/17	1 0 0
A 6 1 K	39/395	Y
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	31/12	
G 0 1 N	33/543	5 0 1 A
G 0 1 N	33/574	A
G 0 1 N	33/574	D
G 0 1 N	33/53	D

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月19日 (2018.10.19)

【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】

FW1-CDR1-FW2-HV2-FW3a-HV4-FW3b-CDR3-FW4の構造を有する二重特異性サメ抗体可変ドメイン(vNARドメイン)の製造方法であって、

a) 超可変領域2(HV2)をコードする少なくとも1つのポリヌクレオチド配列をランダム化する工程、

b) HV2が、対照試料と比較して改変された親和性で目的の抗原に結合し、第2の目的の抗原が、CDR3およびCDR1によって形成されるパラトープによって特異的に結合されるvNARドメインを検出する工程、

c) b)のvNARドメインを選択する工程、
を含む前記方法。

【請求項 2】

vNARドメインが、vNARタイプI、vNARタイプIIまたはvNARタイプIVの1つである、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

vNARをコードする少なくとも1つのポリヌクレオチドに含まれるHV2領域をコードするポリヌクレオチドのランダム化が、コドンベースのランダム化、NNBランダム化、NNKランダム化、NNSランダム化または偏りのあるランダム化を含む、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

HV2ドメインをコードするポリヌクレオチド配列がヌクレオチド配列NNN₁(NNN)₇NNN₉(配列番号1)を含み、前記ヌクレオチド配列において

- 位置1のコドンの50%がアミノ酸リジンをコードし、残りの50%がシステイン以外の任意のアミノ酸をコードし、
- コドン2~8が任意のアミノ酸をコードすることができ、
- 位置9のコドンの50%が、アミノ酸トレオニンをコードし、残りの50%がシステイン以外の任意のアミノ酸をコードする、

請求項1~3のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 5】

第1抗原に対して対照試料と比較して改変された親和性を示すvNARが、酵母表面ディスプレイ、ファージディスプレイ、哺乳動物ディスプレイまたはタンパク質アレイの1つによって検出および/または選択される、請求項1~4のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 6】

NARが、検出可能なタグをさらに含む、請求項1~5のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 7】

検出可能なタグが、vNARのアミノ末端および/またはカルボキシ末端に位置する、請求項1~6のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 8】

vNARの検出および/または選択が、フローサイトメトリー、FACS、ELISAまたはマイクロフルイディクスによって行われる、請求項1~7のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 9】

第1および第2の目的の抗原が細胞表面抗原であるか、または癌細胞表面抗原である、請求項1~8のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 10】

請求項1~9のいずれか1つに記載の方法によって製造されるvNAR。

【請求項 1 1】

請求項 1 0 に記載の vNAR をコードするポリヌクレオチド配列を含むベクター。

【請求項 1 2】

請求項 1 1 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 1 3】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つに記載の vNAR タンパク質の製造方法であって、
- vNAR のタンパク質発現に十分な条件下で請求項 1 2 に記載の少なくとも 1 つの宿主細胞を培養する工程、
- 前記 vNAR タンパク質を分離精製する工程、
を含む前記方法。

【請求項 1 4】

配列番号 1 の HV2 ドメインをコードする複数のポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチドライブラリーであって、
- 位置 1 のコドンの 50% がアミノ酸リジンをコードし、残りの 50% がシステイン以外の任意のアミノ酸をコードし、
- コドン 2 ~ 8 が任意のアミノ酸をコードすることができ、
- 位置 9 のコドンの 50% が、アミノ酸トレオニンをコードし、残りの 50% がシステイン以外の任意のアミノ酸をコードする、
前記ライブラリー。

【請求項 1 5】

全体構造が FW1-CDR1-FW2-HV2-FW3a-HV4-FW3b-CDR3-FW4 であるタイプ I、II またはタイプ IV vNAR ドメインをコードする複数のポリヌクレオチドを含む ポリヌクレオチドライブラリーであって、前記 HV2 ドメインが、配列番号 1 のランダム化ポリヌクレオチド配列によってコードされ、
- 位置 1 のコドンの 50% がアミノ酸リジンをコードし、残りの 50% がシステイン以外の任意のアミノ酸をコードし、
- コドン 2 ~ 8 が任意のアミノ酸をコードすることができ、
- 位置 9 のコドンの 50% が、アミノ酸トレオニンをコードし、残りの 50% がシステイン以外の任意のアミノ酸をコードする、
前記ライブラリー。

【請求項 1 6】

配列番号 2、配列番号 4、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む二重特異性 vNAR。

【請求項 1 7】

FW1-CDR1-FW2-HV2-FW3a-HV4-FW3b-CDR3-FW4 の構造の vNAR ドメインを含む Fc 融合タンパク質であって、前記 HV2 ドメインが請求項 1 ~ 9 のいずれかによってランダム化されている、前記 Fc 融合タンパク質。

【請求項 1 8】

1 以上の vNAR ドメインを含む請求項 1 0 記載の融合タンパク質であって、血清アルブミンに融合しており、前記 1 以上の vNAR ドメインが血清アルブミンのアミノ末端、カルボキシ末端、またはアミノ末端およびカルボキシ末端に融合している、前記融合タンパク質。

【請求項 1 9】

請求項 1 0 に記載の二重特異性 vNAR ンパク質 と前記 vNAR を検出する手段とを含むキット

。