

【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%がシスティ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%がシスティ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に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% がシスティン以外の任意
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% がシスティン以外
の任意のアミノ酸をコードする、
前記ライブラー。

【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% がシスティン以外の任意
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% がシスティン以外
の任意のアミノ酸をコードする、
前記ライブラー。

【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 タンパク質と前記 vNAR を検出する手段とを含むキット
。