

【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 12 月 7 日 (2006.12.7)

【公表番号】特表 2002-527107 (P2002-527107A)

【公表日】平成 14 年 8 月 27 日 (2002.8.27)

【出願番号】特願 2000-577291 (P2000-577291)

【国際特許分類】

**C 1 2 N 15/09 (2006.01)**

**B 0 1 D 15/08 (2006.01)**

**B 0 1 J 20/24 (2006.01)**

**C 0 7 K 1/22 (2006.01)**

**C 0 7 K 14/00 (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)**

**B 0 1 J 20/281 (2006.01)**

**G 0 1 N 30/88 (2006.01)**

**C 1 2 N 15/01 (2006.01)**

**C 1 2 N 5/10 (2006.01)**

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

B 0 1 D 15/08

B 0 1 J 20/24 C

C 0 7 K 1/22 Z C C

C 0 7 K 14/00

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

G 0 1 N 30/48 R

C 1 2 N 15/00 X

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 18 年 10 月 20 日 (2006.10.20)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 アフィニティ分離の方法であって、

(a) 標的分析対象物を含む試料を準備する工程、

(b) 固定化タンパク質を含むマトリックスを準備する工程、ここで該固定化タンパク質は、(i) アルカリ性条件下における該タンパク質の安定性を高めそして(ii) 該タンパク質を標的分析対象物に結合させる、1 つ以上の修飾を含み、そしてここでの 1 つ以上の修飾は、

(1) タンパク質中の 1 つ以上の A s n 残基の欠失；

(2) タンパク質中の1つ以上のAsn残基の、アルカリ性条件への感受性がより低いアミノ酸による置換；

(3) タンパク質中の1つ以上のAsn残基の化学的修飾；および

(4) それらの組み合わせ

からなる群より選択される、

(c) 上記試料および上記マトリックスを接触させる工程、ここで標的分析対象物は固定化タンパク質に結合する、および

(d) 上記標的分析対象物を上記マトリックスから単離させる工程を含む、方法。

【請求項2】 アフィニティリガンドのAsn残基の1つ以上を修飾することによる、アフィニティリガンドを安定化する方法。

【請求項3】 タンパク質分子のコンビナトリアルライブラリーを調製する方法であって、タンパク質がランダム化される前に、タンパク質のAsn残基の1つ以上を修飾することにより、当該タンパク質がアルカリ性のpHにより低い感受性を示すように変えられている、方法。

【請求項4】 ファージディスプレイの方法であって、ファージ表面上で発現したタンパク質が、タンパク質の結合特性を修飾するために導入された修飾とは別個のある工程において修飾された1つ以上のAsn残基を有している、方法。

【請求項5】 安定化されたコンビナトリアルタンパク質を作る方法であって、

a) アルカリ性条件におけるタンパク質の安定性を高めるための、タンパク質分子中のAsn残基の修飾工程、及び

b) タンパク質の結合特性を修飾するための、タンパク質分子のランダム化工程を含む、方法。

【請求項6】 ランダム化工程とは別個のある工程において、タンパク質のAsn残基の1つ以上を修飾することにより、アルカリ性条件におけるタンパク質の安定性が高められている、コンビナトリアルタンパク質。

【請求項7】 1つ以上の天然のAsn残基が修飾されている第一の部分と、その特異的結合特性のために選択されたランダム化されたタンパク質分子である第二の部分とを含む、融合タンパク質。

【請求項8】 リガンド又はタンパク質中の1つ以上のAsn残基が、アルカリ感受性がより低いアミノ酸によって置換されている、請求項1乃至7のいずれか一項に記載の方法又はタンパク質。

【請求項9】 2つ以上のAsn残基が修飾されている、請求項1乃至8のいずれか一項に記載の方法又はタンパク質。

【請求項10】 Asn残基すべてが修飾されている、請求項1乃至9のいずれか一項に記載の方法又はタンパク質。

【請求項11】 リガンド又はタンパク質の三次元構造の表面のAsn残基が修飾されている、請求項1乃至10のいずれか一項に記載の方法又はタンパク質。

【請求項12】 Asn残基が、リジン、アスパラギン酸及びロイシンから選択されたアミノ酸で置換されている、請求項1乃至11のいずれか一項に記載の方法又はタンパク質。

【請求項13】 アフィニティリガンドがコンビナトリアルタンパク質である、請求項1、2又は8乃至12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】 c) ランダム化されたアフィニティリガンドを、表面ディスプレイライブラリーにおける発現によって選択する工程、をさらに含む請求項5又は13に記載の方法。

【請求項15】 アフィニティリガンドが、表面ディスプレイライブラリーにおける発現によって選択されたランダム化タンパク質である、請求項13に記載の方法。

【請求項16】 コンビナトリアルタンパク質が、免疫グロブリン分子あるいはその断片又は誘導体、ブドウ球菌のタンパク質A(SPA)あるいはその断片、ドメイン又は

誘導体、又は、DNA結合タンパク質あるいはその断片又はドメインに由来する、請求項13乃至15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】 コンビナトリアルタンパク質が、ドメインZ（SPAのBドメインの誘導体）又はその誘導体である、請求項16に記載の方法。

【請求項18】 アフィニティリガンドが、アルブミン結合タンパク質（ABD）あるいはその断片又は誘導体を含む、請求項1乃至17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】 アフィニティ分離法で使用するのに適している、1つ以上の天然のAsn残基が、アルカリ感受性がより低いアミノ酸で置換されている、アルブミン結合タンパク質（ABD）あるいはその断片又は誘導体。

【請求項20】 第一の部分がABDであり、第二の部分がドメインZ（SPAのBドメインの誘導体）又はその誘導体であって、アフィニティ分離法で使用するのに適している、請求項7に記載の融合タンパク質。

【請求項21】 コンビナトリアルタンパク質が、免疫グロブリン分子あるいはその断片又は誘導体、ブドウ球菌のタンパク質A（SPA）あるいはその断片、ドメイン又は誘導体、又はDNA結合タンパク質あるいはその断片又はドメインに由来する、請求項6又は7に記載のタンパク質。

【請求項22】 コンビナトリアルタンパク質が、ドメインZ（SPAのBドメインの誘導体）又はその誘導体を含む、請求項21に記載のタンパク質。

【請求項23】 アフィニティリガンドが、アルブミン結合タンパク質（ABD）あるいはその断片又は誘導体を含む、請求項6、7、21又は22のいずれか一項に記載のタンパク質。

【請求項24】 請求項6、7、8乃至12又は21乃至23のいずれか一項において定義されたタンパク質をコードする核酸分子。

【請求項25】 請求項6、7、8乃至12又は21乃至23のいずれか一項において定義されたタンパク質を発現する宿主細胞。