

【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】令和2年2月13日(2020.2.13)

【公表番号】特表2019-505206(P2019-505206A)

【公表日】平成31年2月28日(2019.2.28)

【年通号数】公開・登録公報2019-008

【出願番号】特願2018-535425(P2018-535425)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/62 (2006.01)
 C 4 0 B 40/08 (2006.01)
 C 1 2 N 15/63 (2006.01)
 C 1 2 P 21/02 (2006.01)
 C 0 7 K 19/00 (2006.01)
 C 4 0 B 40/10 (2006.01)
 C 1 2 N 15/12 (2006.01)
 C 0 7 K 14/47 (2006.01)
 A 6 1 K 38/16 (2006.01)
 A 6 1 K 47/64 (2017.01)
 A 6 1 K 49/04 (2006.01)
 A 6 1 P 25/04 (2006.01)
 A 6 1 P 31/04 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 37/06 (2006.01)
 C 4 0 B 30/04 (2006.01)
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)
 C 1 2 N 15/13 (2006.01)
 C 0 7 K 16/18 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/62 Z
 C 4 0 B 40/08 Z N A
 C 1 2 N 15/63 Z
 C 1 2 P 21/02 C
 C 0 7 K 19/00
 C 4 0 B 40/10
 C 1 2 N 15/12
 C 0 7 K 14/47
 A 6 1 K 38/16
 A 6 1 K 47/64
 A 6 1 K 49/04
 A 6 1 P 25/04
 A 6 1 P 31/04
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 37/06
 C 4 0 B 30/04
 G 0 1 N 33/53 D
 G 0 1 N 33/53 N
 C 1 2 N 15/13
 C 0 7 K 16/18

【手続補正書】

【提出日】令和1年12月24日(2019.12.24)

【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】

スクリーニング方法であって、

(i) 結合メンバーの親ライブラリーを用意することであって、前記ライブラリー中のそれぞれの結合メンバーが融合タンパク質および必要に応じて、前記融合タンパク質と結合したパートナードメインを含み、

前記融合タンパク質が、レシピエント多様性足場ドメイン中に挿入されたドナー多様性足場ドメインを含み、必要に応じて、前記ドナー多様性足場ドメインのNおよびC末端が、4個までのアミノ酸のリンカーを用いて、前記レシピエント多様性足場ドメインに連結されており、

前記ドナー多様性足場ドメインがドナー足場およびドナー相互作用配列を含み、前記レシピエント多様性足場ドメインがレシピエント足場およびレシピエント相互作用配列を含み、前記ドナー相互作用配列、前記レシピエント相互作用配列および前記リンカーの内の1つ、2つまたは3つ全てが、前記親ライブラリー中で多様性を有すること、

(ii) 結合活性を示す結合メンバーで前記ライブラリーをスクリーニングすること、および

(iii) 結合活性を示す、前記親ライブラリー中の1個または複数の結合メンバーを特定すること、を含む、方法。

【請求項2】

下記により前記1個または複数の結合メンバーをさらに濃縮することを含む、請求項1に記載の方法：

(a) 前記1個または複数の結合メンバーを回収すること、

(b) 前記回収した結合メンバーを前記結合活性による選択に供すること、

(c) 前記1個または複数の選択された結合メンバーを回収すること、

(d) 必要に応じて、ステップ(b)および(c)を1回または複数回繰り返すこと。

【請求項3】

下記をさらに含む、請求項1又は2に記載の方法：

(iv) 1個または複数の特定された親結合メンバーのアミノ酸配列中の、1個または複数の位置に多様なアミノ酸残基を導入し、結合メンバーの改変ライブラリーを生成すること、

(v) 前記改変ライブラリーから結合活性を示す改変結合メンバーをスクリーニングすること、および

(vi) 前記改変ライブラリー中の、前記結合活性を示す1個または複数の改変結合メンバーを特定すること。

【請求項4】

下記により前記1個または複数の結合メンバーをさらに濃縮することを含む、請求項3に記載の方法：

(e) 前記1個または複数の改変結合メンバーを回収すること、

(f) 前記回収した改変結合メンバーを前記結合活性による選択に供すること、

(g) 前記1個または複数の選択された結合メンバーを回収すること、および

(h) 必要に応じて、ステップ(f)および(g)を1回または複数回繰り返すこと。

【請求項5】

下記を含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法：

(vii) 前記 1 個または複数の特定された結合メンバーまたは改変結合メンバー由来の前記融合タンパク質を、結合パートナーの多様性集団と結合させて、結合メンバーのシャッフルライブラリーを生成すること、

(viii) 前記シャッフルライブラリーから結合活性を示すシャッフル結合メンバーをスクリーニングすること、

(ix) 前記結合活性を示す 1 個または複数のシャッフル結合メンバーを特定すること。

【請求項 6】

下記により前記 1 個または複数のシャッフル結合メンバーをさらに濃縮することを含む、請求項 5 に記載の方法：

(i) 前記 1 個または複数のシャッフル結合メンバーを回収すること、

(j) 前記回収したシャッフル結合メンバーを前記結合活性による選択に供すること、

(k) 前記 1 個または複数の選択された結合改変メンバーを回収すること、および

(l) 必要に応じて、ステップ (j) および (k) を 1 回または複数回繰り返すこと。

【請求項 7】

前記融合タンパク質のドナーおよびレシピエントの両方の多様性足場が、前記融合タンパク質の結合活性に寄与する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記ライブラリー由来の 1 個または複数の特定された結合メンバーを単離および / または精製することを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記ライブラリー中の結合メンバーが、前記結合メンバーをコードする核酸を含むリボソーム、細胞またはウイルスの表面上に提示される、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記ライブラリー由来の前記 1 個または複数の特定された結合メンバーを提示する前記リボソーム、細胞またはウイルスを単離および / または精製することを含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記ライブラリー由来の前記 1 個または複数の特定された結合メンバーをコードする前記核酸を単離および / または精製することを含む、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記ライブラリー由来の前記 1 個または複数の特定された結合メンバーをコードする前記核酸を増幅および / またはクローニングすることを含む、請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記ライブラリー由来の 1 個または複数の特定された結合メンバーを合成または組み換え発現させることを含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記ライブラリーから特定された前記 1 個または複数の結合メンバーの標的分子の活性に対する効果を測定することを含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記標的分子が、イオンチャンネルであり、前記 1 個または複数の特定された結合メンバーの、前記チャンネルを通るイオン流に対する効果が測定される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記親ライブラリー由来の 1 個または複数の特定された結合メンバーから単離されたドナー多様性足場ドメインを合成または組み換え発現させることを含む、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

1個または複数の前記特定された結合メンバーを、s c F v、F a b、s c F v - F c、F c、I g A、I g D、I g MまたはI g Gとして再フォーマットすることを含む、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

【請求項18】

治療薬部分、半減期延長部分または検出可能な標識を、前記1個または複数の特定された結合メンバーに付加することを含む、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項19】

結合メンバーのライブラリー生成方法であって、

レシピエント多様性足場ドメインに挿入されたドナー多様性足場ドメインを含む融合タンパク質の多様性集団をコードする核酸の集団を用意することであって、

前記ドナー多様性足場ドメインがドナー足場およびドナー相互作用配列を含み、前記レシピエント多様性足場ドメインがレシピエント足場およびレシピエント相互作用配列を含み、必要に応じて、前記ドナー多様性足場ドメインのNおよびC末端が、4個までのアミノ酸リンカーを用いて前記レシピエント多様性足場ドメインに連結されて、前記ドナー相互作用配列、前記レシピエント相互作用配列および前記リンカーの内の1つ、2つまたは3つ全てが、前記集団中で多様性を有すること、

前記核酸集団を発現させて、前記多様性集団を生成すること、および

必要に応じて、前記融合タンパク質をパートナードメインの集団と結合させて、それにより、結合メンバーのライブラリーを生成すること、を含む、方法。

【請求項20】

前記核酸が、細胞中でまたは無細胞のリボソーム中で発現される、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

前記細胞が原核細胞である、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

前記細胞が真核細胞である、請求項20に記載の方法。

【請求項23】

前記真核細胞が、植物、酵母、昆虫または哺乳動物細胞である、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

結合メンバーのライブラリーであって、

レシピエント多様性足場ドメインに挿入されたドナー多様性足場ドメインを含む融合タンパク質の多様性集団を含み、

前記ドナー多様性足場ドメインがドナー足場およびドナー相互作用配列を含み、前記レシピエント多様性足場ドメインがレシピエント足場およびレシピエント相互作用配列を含み、必要に応じて、前記ドナー多様性足場ドメインのNおよびC末端が、4個までのアミノ酸リンカーを用いて前記レシピエント多様性足場ドメインに連結され、

前記ドナー相互作用配列、前記レシピエント相互作用配列および前記リンカーの内の1つ、2つまたは3つ全てが、前記集団中で多様性を有し、

必要に応じて、前記融合タンパク質が結合パートナーに結合してヘテロダイマーを形成する、ライブラリー。

【請求項25】

レシピエント多様性足場ドメイン中に挿入されたドナー多様性足場ドメインを含む融合タンパク質であって、前記ドナー多様性足場ドメインがドナー足場およびドナー相互作用配列を含み、前記レシピエント多様性足場ドメインがレシピエント足場およびレシピエント相互作用配列を含む、融合タンパク質。

【請求項26】

請求項25に記載の融合タンパク質およびパートナードメインを含む、結合メンバー。

【請求項27】

結合メンバーの生成方法であって、

ドナー多様性足場ドメインをコードする核酸を、レシピエント多様性足場ドメインをコードする核酸に挿入して、融合タンパク質をコードするキメラ核酸を生成することであって、

前記ドナー多様性足場ドメインがドナー足場およびドナー相互作用配列を含み、前記レシピエント多様性足場ドメインがレシピエント足場およびレシピエント相互作用配列を含むこと、

前記キメラ核酸を発現させて、前記融合タンパク質を生成すること、および必要に応じて、前記融合タンパク質をパートナードメインに付加すること、を含む、方法。

【請求項 28】

片方または両方の多様性足場ドメインが、複数のジスルフィド結合を含む、請求項 1 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 29】

前記レシピエント多様性足場ドメインが、免疫グロブリン、免疫グロブリンドメイン、VHドメイン、VLドメイン、ノッチン、プロテインA、「設計アンキリンリピートタンパク質」(DARPin)、adhiron、フィブロネクチンドメイン、アンチカリンおよびT7ファージ遺伝子2タンパク質(Gp2)からなる群から選択される、請求項 1 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 30】

前記レシピエント多様性足場ドメインが、免疫グロブリンの全体またはその一部である、請求項 29 に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 31】

前記レシピエント多様性足場ドメインが、抗体可変ドメインの全体またはその一部である、請求項 30 に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 32】

前記レシピエント多様性足場ドメインが、抗体軽鎖可変(VL)ドメインである、請求項 31 に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 33】

前記パートナードメインが、抗体重鎖可変(VH)ドメインである、請求項 32 に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 34】

前記VLドメインおよび前記VHドメインが可撓性リンカーにより連結されている、請求項 33 に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 35】

前記ドナー多様性足場ドメインが、前記抗体可変ドメインのVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2またはVL CDR3の全体またはその一部を置換する、請求項 29 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 36】

前記ドナー多様性足場ドメインが、前記抗体VLドメインのCDR1またはCDR2の全体またはその一部を置換する、請求項 32 に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 37】

前記ドナー多様性足場ドメインが、免疫グロブリン、免疫グロブリンドメイン、VHドメイン、VLドメイン、プロテインA、毒液ペプチドまたはノッチンなどのシステインリッチペプチド、「設計アンキリンリピートタンパク質」(DARPin)、adhiron、フィブロネクチンドメイン、アンチカリンおよびT7ファージ遺伝子2タンパク質(Gp2)からなる群から選択される、請求項 1 ~ 36 のいずれか 1 項に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 38】

前記ドナー多様性足場ドメインが、システインリッチペプチドである、請求項37に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 39】

ドナー多様性足場ドメインが、毒液ペプチドである、請求項38に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 40】

前記ドナー多様性足場ドメインがノッチンである、請求項37 ~ 39のいずれか1項に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 41】

前記ドナー多様性足場ドメインが、テッポウウリトリブシン阻害剤 - I I (E E T I - I I)、K C o T I - I I、H u w e n t o x i n - I V、P r o T x - I I、S S m 6 a、カリオトキシン、M o K a - 1、S h k、P c T x 1若しくはコノトキシン - 、またはこれらのバリエーションである、請求項40に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 42】

前記ドナー多様性足場ドメインの天然のNおよびC末端が、前記レシピエント多様性足場ドメインに連結されている、請求項37 ~ 41のいずれか1項に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 43】

前記ドナー多様性足場ドメインの環化および直線化により生成された人工のNおよびC末端が、前記レシピエント多様性足場ドメインに連結されている、請求項37 ~ 41のいずれか1項に記載の方法、ライブラリー、融合タンパク質または結合メンバー。

【請求項 44】

請求項25及び28 ~ 43のいずれか1項に記載の融合タンパク質をコードする核酸。

【請求項 45】

請求項24および28 ~ 43のいずれか1項に記載のライブラリーをコードする核酸の集団。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2019505206A5	公开(公告)日	2020-02-13
申请号	JP2018535425	申请日	2017-01-09
[标]申请(专利权)人(译)	IONTAS		
发明人	カラット ヴェラット アニーシュ マカファーティ ジョン スレード サチン ルーケンス ティム マスターズ エドワード ダイソン マイケル		
IPC分类号	C12N15/62 C40B40/08 C12N15/63 C12P21/02 C07K19/00 C40B40/10 C12N15/12 C07K14/47 A61K38/16 A61K47/64 A61K49/04 A61P25/04 A61P31/04 A61P35/00 A61P37/06 C40B30/04 G01N33/53 C12N15/13 C07K16/18		
CPC分类号	A61P25/04 A61P31/04 A61P35/00 A61P37/06 C12N15/1037 C12N15/10 C07K16/4208 C07K16/46 C07K2317/565 C07K2317/567 C07K2318/20 C12N15/62 C12N15/85 C12N2015/8518 C40B30/04 C40B40/02 C40B40/10 C40B50/14		
FI分类号	C12N15/62.Z C40B40/08.ZNA C12N15/63.Z C12P21/02.C C07K19/00 C40B40/10 C12N15/12 C07K14/47 A61K38/16 A61K47/64 A61K49/04 A61P25/04 A61P31/04 A61P35/00 A61P37/06 C40B30/04 G01N33/53.D G01N33/53.N C12N15/13 C07K16/18		
F-TERM分类号	4B064/AG01 4B064/AG26 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC15 4B064/CC24 4B064/CE20 4B064/DA01 4C076/AA01 4C076/AA06 4C076/AA09 4C076/AA11 4C076/AA17 4C076/AA22 4C076/AA24 4C076/AA30 4C076/AA31 4C076/AA36 4C076/AA53 4C076/AA95 4C076/BB01 4C076/BB11 4C076/BB13 4C076/BB14 4C076/BB15 4C076/BB16 4C076/BB22 4C076/BB24 4C076/BB25 4C076/BB27 4C076/BB29 4C076/BB30 4C076/BB31 4C076/CC01 4C076/CC07 4C076/CC27 4C076/CC32 4C076/EE41 4C076/EE59 4C076/FF70 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA41 4C084/BA44 4C084/BA50 4C084/CA53 4C084/DA32 4C084/DA39 4C084/DC50 4C084/MA13 4C084/MA17 4C084/MA22 4C084/MA23 4C084/MA28 4C084/MA31 4C084/MA35 4C084/MA37 4C084/MA41 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA56 4C084/MA57 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA66 4C084/MA67 4C084/NA14 4C084/ZA08 4C084/ZB08 4C084/ZB26 4C084/ZB35 4C085/HH20 4C085/KA26 4C085/KB82 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/BA50 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA27 4H045/EA50 4H045/EA60 4H045/EA65 4H045/FA74		
优先权	2016000341 2016-01-08 GB 2016021070 2016-12-12 GB		
其他公开文献	JP2019505206A		

摘要(译)

本发明涉及结合成员的文库，其各自包含融合蛋白，所述融合蛋白包含供体多样性支架结构域，例如插入受体多样性支架结构域（例如抗体恒定或可变结构域）中的富含半胱氨酸的蛋白。。提供了用于产生文库的文库和方法，以及筛选方法，结合成员和使用结合成员的方法。[选择图]无

