

【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20年9月11日(2008.9.11)

【公表番号】特表2008-511323(P2008-511323A)

【公表日】平成20年4月17日(2008.4.17)

【年通号数】公開・登録公報2008-015

【出願番号】特願2007-529870(P2007-529870)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(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	14/50	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 P	3/04	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	5/50	(2006.01)
A 6 1 P	3/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 P	21/02	H
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	A
C 0 7 K	14/50	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	5/50	
A 6 1 P	3/00	

【手続補正書】

【提出日】平成20年7月24日(2008.7.24)

【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】

ヒト線維芽細胞成長因子21(以下、ヒトFGF-21という)の突然変異タンパク質又はその生物活性ペプチドであって、アルギニン19、チロシン20、ロイシン21、チロシン22、スレオニン23、アスパラギン酸24、アスパラギン酸25、アラニン26、グルタミン27、グルタミン28、アラニン31、ロイシン33、イソロイシン35、ロイシン37、バリン41、グリシン42、グリシン43、グルタミン酸50、グルタミン54、ロイシン58、バリン62、ロイシン66、グリシン67、リジン69、アルギ

ニン 7 2、フェニルアラニン 7 3、グルタミン 7 6、アルギニン 7 7、アスパラギン酸 7 9、グリシン 8 0、アラニン 8 1、ロイシン 8 2、グリシン 8 4、セリン 8 5、プロリン 9 0、アラニン 9 2、セリン 9 4、フェニルアラニン 9 5、ロイシン 1 0 0、アスパラギン酸 1 0 2、チロシン 1 0 4、チロシン 1 0 7、セリン 1 0 9、グルタミン酸 1 1 0、プロリン 1 1 5、ヒスチジン 1 1 7、ロイシン 1 1 8、プロリン 1 1 9、アスパラギン 1 2 1、リジン 1 2 2、セリン 1 2 3、プロリン 1 2 4、ヒスチジン 1 2 5、アルギニン 1 2 6、アスパラギン酸 1 2 7、アラニン 1 2 9、プロリン 1 3 0、グリシン 1 3 2、アラニン 1 3 4、アルギニン 1 3 5、ロイシン 1 3 7、プロリン 1 3 8、又はロイシン 1 3 9の2つ以上のアミノ酸に対するシステインの置換と共に、Ser 1 6 7に対するSer又はThr以外のアミノ酸置換を含み、アミノ酸の番号付けは配列番号1に基づき、前記突然変異タンパク質は、酵母において発現する場合、野生型ヒトFGF-21と比較してO-グリコシル化の能力が減少することを特徴とする、突然変異タンパク質又はその生物活性ペプチド。

【請求項2】

前記突然変異タンパク質は、Leu 1 1 8 Cys / Ala 1 3 4 Cys / Ser 1 6 7 Alaである請求項1に記載の突然変異タンパク質。

【請求項3】

前記突然変異タンパク質は、N末端から4個以下のアミノ酸によって切断されている請求項1又は2のいずれかに記載の突然変異タンパク質。

【請求項4】

前記突然変異タンパク質は、His Pro Ile Pro / Leu 1 1 8 Cys / Ala 1 3 4 Cys / Ser 1 6 7 Alaである請求項3に記載の突然変異タンパク質。

【請求項5】

(a) 治療上有効量の請求項1～4のいずれかに記載のヒトFGF-21の突然変異タンパク質；および

(b) 薬理学的に許容できる担体

を含む、肥満症、2型糖尿病、インスリン耐性、高インスリン血症、グルコース不耐性、高血糖、又は代謝症候群の1又は複数を呈する患者を治療するのに有用な医薬組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0028

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0028】

本発明は、グリコシル化部位の数及び / 又は型が、天然のFGF-21と比較して改変されるグリコシル化突然変異タンパク質を提供する。そのような実施形態は、O結合型グリコシル化部位についてより小さい数を含むFGF-21の突然変異タンパク質を含む。O結合型グリコシル化部位を特定するコンセンサスアミノ酸配列は存在せず、このような識別は困難な課題である。通常、O結合型グリコシル化は、セリン又はスレオニン残基の側鎖に生じる。O結合型グリコシル化部位が特定されると、この配列を除去するアミノ酸置換が、既存のO結合型糖鎖を除去する。本発明において特定されるO結合型グリコシル化部位は、Ser 1 6 3、Ser 1 6 4、Ser 1 6 7、Ser 1 7 2、及びSer 1 7 6を含む。O-グリコシル化の原発部位は、Ser 1 6 7である。出願人らは、Ser 1 6 7位の除去は、突然変異タンパク質を発現した酵母がO-グリコシル化の有意な減少を引き起こすことを見出した。Ser 1 6 7は、O-グリコシル化を除去する変異の好ましい位置であるが、ヒトFGF-21(Ser 1 6 3、Ser 1 6 4、Ser 1 7 2、及び、Ser 1 7 6)において、O-グリコシル化する他の位置への変異は、本発明の範囲内である。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 3 9

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0 0 3 9】

一定の線維芽細胞成長因子のペプチドフラグメントが生物学的に活性であることは、当技術分野において確立されている。例えば、Baird et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 85: 2324 - 2328 (1988)、及びJ. Cell. Phys. Suppl. 5: 101 - 106 (1987)を参照されたい。例えば、ジペプチジルペプチダーゼIV (DPP-IV) は、神経ペプチド、内分泌ペプチド、及びサイトカインの不活性化に関するセリン型プロテアーゼであることが公知である (Damme et al. Chem. Immunol. 72: 42 - 56, (1999))。FGF-21のN末端 (His Pro Ile Pro) は、DPP-IVに対する潜在的な基質となる2つのジペプチドを含み、4個以下のアミノ酸によってN末端で切断されているフラグメントを生じる。予想外に、この野生型 FGF-21 のフラグメントは、生物活性を保持することが証明されており (表1)、従って、本発明のいずれの実施形態のアミノ酸置換で組み合わされる4個以下のアミノ酸によって、N末端において切断されている本発明の突然変異タンパク質も生物活性を保持する。更に、出願人らは、N末端からの5つ以上のアミノ酸の切断によって生物活性に否定的な影響を与えることを発見した。