

【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27年11月5日 (2015.11.5)

【公表番号】特表2014-531897(P2014-531897A)

【公表日】平成26年12月4日 (2014.12.4)

【年通号数】公開・登録公報2014-066

【出願番号】特願2014-528847(P2014-528847)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/42 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/04 (2006.01)

C 0 7 K 14/78 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/42 Z N A

A 6 1 P 9/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 37/43

C 0 7 K 14/78

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成27年9月9日 (2015.9.9)

【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】

遺伝子工学によってエンドスタチンの A T P 結合モチーフ G X X G X X K に変異を導入し、それによって A T P アーゼ活性が低下したエンドスタチン変異体を得ることにより、エンドスタチンの A T P アーゼ活性を低下させることを含む、エンドスタチンの生物活性を向上させる方法。

【請求項 2】

前記エンドスタチン変異体の内皮細胞移動阻害活性が増強されているか、前記エンドスタチン変異体の腫瘍阻害活性が増強されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記エンドスタチン変異体が、配列番号 6 ~ 11、13、14、15 ~ 27 及び 30 ~ 31 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

増加した抗血管新生活性を有し、A T P 結合モチーフ G X X G X X K に変異を含み、対応する野生型エンドスタチンと比較して低下した A T P アーゼ活性を有する、エンドスタチン変異体。

【請求項 5】

対応する前記野生型エンドスタチンと比較して、A T P アーゼ活性が少なくとも 30 %、少なくとも 50 %、少なくとも 70 %、又は少なくとも 90 % 減少している、請求項 4 に記載の変異体。

【請求項 6】

A T P アーゼ活性を持たない、請求項 5 に記載の変異体。

【請求項 7】

配列番号 1 のアミノ酸残基 8 9 ~ 9 5 からなる G l y - S e r - G l u - G l y - P r o - L e u - L y s モチーフに対応する配列中に変異を含み、前記変異が 1 つ又はいくつかのアミノ酸の置換、欠失又は付加であり、前記変異が、前記変異体の A T P アーゼ活性の減少又は消失をもたらす、請求項 4 に記載の変異体。

【請求項 8】

配列番号 1 のアミノ酸残基 8 9 ~ 9 5 からなる前記 G l y - S e r - G l u - G l y - P r o - L e u - L y s モチーフに対応する前記配列の部分的又は完全な欠失を含む、請求項 7 に記載の変異体。

【請求項 9】

(a) 配列番号 1 のアミノ酸残基 8 9 に対応する G l y 残基が、非荷電若しくは芳香族アミノ酸で置換された又は欠失した、又は

(b) 配列番号 1 のアミノ酸残基 9 2 に対応する G l y 残基が、非荷電アミノ酸で置換された又は欠失した、又は

(c) 配列番号 1 のアミノ酸残基 9 5 に対応する L y s 残基が、正荷電若しくは非荷電アミノ酸で置換された又は欠失した、又は

(d) (a) ~ (c) の任意の組合せである、請求項 7 に記載の変異体。

【請求項 10】

(a) 配列番号 1 のアミノ酸残基 8 9 に対応する G l y 残基が、A l a 若しくは P r o のいずれかで置換された又は欠失した、又は

(b) 配列番号 1 のアミノ酸残基 9 2 に対応する G l y 残基が、A l a で置換された又は欠失した、又は

(c) 配列番号 1 のアミノ酸残基 9 5 に対応する L y s 残基が、A r g 若しくは G l n のいずれかで置換された又は欠失した、又は

(d) (a) ~ (c) の任意の組合せである、請求項 9 に記載の変異体。

【請求項 11】

配列番号 6 ~ 1 1、1 3、1 4、1 5 ~ 2 7 及び 3 0 ~ 3 1 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1 0 に記載の変異体。

【請求項 12】

配列番号 6、配列番号 1 0、配列番号 2 7 及び配列番号 3 0 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1 1 に記載の変異体。

【請求項 13】

エンドスタチンがヒトエンドスタチンである、請求項 4 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の変異体。

【請求項 14】

請求項 4 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の変異体を含む、血管新生関連疾患を治療するための医薬組成物。

【請求項 15】

前記変異体が、P E G 分子に共有結合されている、請求項 1 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

前記 P E G 分子の分子量が、5 ~ 4 0 k D である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

前記 P E G 分子が、前記変異体の N 末端で アミノ基に共有結合されている、請求項 1 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

前記 P E G 分子が、モノメトキシポリ(エチレングリコール) - アルデヒド (m P E G - A L D) である、請求項 1 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

前記血管新生関連疾患が腫瘍である、請求項 14 ~ 18 のいずれか一項に記載の 医薬組成物。

【請求項 20】

エンドスタチン又はその多様体若しくは変異体、或いはそれらの PEG 修飾産物の生物活性を検出する方法であって、前記エンドスタチン、多様体、変異体又は PEG 修飾産物の ATP アーゼ活性を検出するステップを含む方法。

【請求項 21】

マラカイトグリーンリン酸塩アッセイ又は ATP Bioluminizer アッセイによってエンドスタチンの ATP アーゼ活性を検出することを含む、請求項 20 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0014

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0014】

従って、本発明は、エンドスタチン又はその多様体若しくは変異体、或いはそれらの PEG 修飾産物の ATP アーゼ活性を検出することを含む、エンドスタチン又はその多様体若しくは変異体、或いはそれらの PEG 修飾産物の生物活性を検出する方法を提供する。例えば、マラカイトグリーンリン酸塩アッセイ及び ATP 生物発光アッセイを使用して、エンドスタチン又はその多様体若しくは変異体、或いはそれらの PEG 修飾産物の ATP アーゼ活性を検出し、それによって組換え的に生産された ES 産物の立体構造及び生物活性を決定できる。