

【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1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2004-534503(P2004-534503A)

【公表日】平成16年11月18日(2004.11.18)

【年通号数】公開・登録公報2004-045

【出願番号】特願2002-535697(P2002-535697)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 6 1 K	47/48	(2006.01)
A 6 1 P	7/02	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/10	(2006.01)
A 6 1 P	11/00	(2006.01)
A 6 1 P	15/00	(2006.01)
A 6 1 P	17/02	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	41/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
C 1 2 N	9/64	(2006.01)
C 1 2 N	9/96	(2006.01)
A 6 1 K	38/48	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 P	7/02	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	41/00	
A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 1 2 N	9/64	
C 1 2 N	9/96	
A 6 1 K	37/547	
C 1 2 N	5/00	B

【手続補正書】

【提出日】平成16年10月15日(2004.10.15)

【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】ヒトプロテインCの変異体であつて、

a) 該変異体のアミノ酸配列は、配列番号4のアミノ酸配列または配列番号4に示すアミノ酸配列のAPC部分と1-10アミノ酸残基が相違しており、かつ

b) 該変異体のアミノ酸配列には、配列番号4のアミノ酸配列と比較してN-グリコシル化部位が少なくとも1個導入されており、該少なくとも1個のN-グリコシル化部位が、D172N+K174S、D172N+K174T、D189N+K191S、D189N+K191T、S190N+K192S、S190N+K192T、K191N+K193S、K191N+K193T、K192N+L194S、K192N+L194T、K193N+A195S、K193N+A195T、D214N、D214N+S216T、E215N+K217S、E215N+K217T、S216N+K218S、S216N+K218T、K217N+L219S、K217N+L219T、K218N+L220S、K218N+L220T、L220N+R222S、L220N+R222T、V243N+V245S、V243N+V245T、V245N+P247S、V245N+P247T、S250N、S250N+S252T、K251N、K251N+T253S、S252N、S252N+T254S、T253N+D255S、T253N+D255T、T254N+N256S、T254N+N256T、D255N+D257S、D255N+D257T、L296N、L296N+T298S、Y302N+S304T、H303N、H303N+S305T、S304N+R306S、S304N+R306T、S305N+E307S、S305N+E307T、R306N+K308S、R306N+K308T、E307N+E309S、E307N+E309T、K308N+A310S、K308N+A310T、E309N+K311S、E309N+K311T、A310N+R312S、A310N+R312T、R312N+R314S、R312N+R314T、T315N+V317S、T315N+V317T、F316N+L318S、F316N+L318T、V334N、V334N+S336T、S336N+M338S、S336N+M338T、V339S、V339T、M338N、M338N+S340T、I348N+G350S、I348N+G350T、L349N+D351S、L349N+D351T、D351N+Q353S、D351N+Q353T、R352N+D354S、R352N+D354T、E357N+D359S、E357N+D359T、G383N+G385S、G383N+G385T、L386N+H388S、L386N+H388T、L387N+N389S、L387N+N389T、H388N+Y390S、およびH388N+Y390Tより成る群から選ばれる置換によって導入されている変異体。

【請求項2】 活性型である、請求項1に記載の変異体。

【請求項3】 該少なくとも1個の導入N-グリコシル化部位が、D189N+K191S、D189N+K191T、S190N+K192S、S190N+K192T、K191N+K193S、K191N+K193T、D214N、D214N+S216T、K217N+L219S、K217N+L219T、K251N、K251N+T253S、S252N、S252N+T254S、T253N+D255S、T253N+D255T、Y302N+S304T、T253N+D255S、T253N+D255T、S336N+M338S、S336N+M338T、V339S、V339T、M338N、M338N+S340T、G383N+G385S、G383N+G385T、L386N+H388S、およびL386N+H388Tより成る群から選ばれる置換によって導入されている、請求項1または2に記載の変異体。

【請求項4】 該少なくとも1個の導入N-グリコシル化部位が、D189N+K191S、D189N+K191T、K191N+K193T、D214N、D214N+S216T、K251N、K251N+T253S、S252N、S252N+T254S、T253N+D255S、T253N+D255T、Y302N+S304T、S305N+E307T、S305N+E307S、S336N+M338S、S336N+M338T、V339S、V339T、M338N、M338N+S340T、G383N+G385S、G383N+G385T、L386N+H388S、およびL386N+H388Tより成る群から選ばれる置換によって導入されている、請求項3に記載の変異体。

【請求項5】 該少なくとも1個の導入N-グリコシル化部位が、D189N+K191T、K191N+K193T、D214N、K251N、S252N、T253N+D255T、S305N+E307T、S336N+M338T、V339T、M338N、G383N+G385T、およびL386N+H388Tより成る群から選ばれる置換によって導入されている、請求項4に記載の変異体。

【請求項6】 該少なくとも1個の導入N-グリコシル化部位が、D189N+K191T、K191N+K193T、D214N、T253N+D255T、S305N+E307T、S336N+M338T、M338N、G383N+G385T、およびL386N+H388Tより成る群から選ばれる置換によって導入されている、請求項5に記載の変異体。

【請求項7】 該少なくとも1個の導入N-グリコシル化部位が、D189N+K191T、D214N、およびL386N+H388Tより成る群から選ばれる置換によって導入されている、請求項6に記載の変異体。

【請求項8】 ヒトプロテインCの変異体であって、該変異体のアミノ酸配列は、配列番号4のアミノ酸配列または配列番号4に示すアミノ酸配列のAPC部分と1-10アミノ酸残基が相違しており、かつ、活性部位領域に位置し同時にその側鎖の少なくとも25%が表面に露出している配列番号4のアミノ酸配列における少なくとも1個の荷電アミノ酸残基が、電荷を持たないアミノ酸残基または逆の電荷を持つアミノ酸残基によって置換されている変異体。

【請求項 9】 活性型である、請求項 8 に記載の変異体。

【請求項 10】 少なくとも1個の荷電アミノ酸残基が、Gly、Ser、Thr、Cys、Tyr、AsnおよびGlnより成る群から選ばれる電荷を持たないアミノ酸残基によって置換されている、請求項 8 または 9 に記載の変異体。

【請求項 11】 D172G/S/T/C/Y/N/Q、D189G/S/T/C/Y/N/Q、K191G/S/T/C/Y/N/Q、K192G/S/T/C/Y/N/Q、K193G/S/T/C/Y/N/Q、D214G/S/T/C/Y/N/Q、E215G/S/T/C/Y/N/Q、K217G/S/T/C/Y/N/Q、K218G/S/T/C/Y/N/Q、K251G/S/T/C/Y/N/Q、D255G/S/T/C/Y/N/Q、R306G/S/T/C/Y/N/Q、E307G/S/T/C/Y/N/Q、K308G/S/T/C/Y/N/Q、E309G/S/T/C/Y/N/Q、R312G/S/T/C/Y/N/Q、D351G/S/T/C/Y/N/Q、R352G/S/T/C/Y/N/Q、E357G/S/T/C/Y/N/Q、およびE382G/S/T/C/Y/N/Qより成る群から選ばれる少なくとも1個の置換を有する、請求項 10 記載の変異体。

【請求項 12】 D214G/S/T/C/Y/N/Q、E215G/S/T/C/Y/N/Q、K251G/S/T/C/Y/N/Q、およびE357G/S/T/C/Y/N/Qより成る群から選ばれる少なくとも1個の置換を有する、請求項 10 記載の変異体。

【請求項 13】 D214Q、E215Q、K251QおよびE357Qより成る群から選ばれる少なくとも1個の置換を有する、請求項 10 記載の変異体。

【請求項 14】 K251Qの置換を有する、請求項 10 記載の変異体。

【請求項 15】 少なくとも1個の荷電アミノ酸残基が、D172K、D172R、D189K、D189R、K191D、K191E、K192D、K192E、K193D、K193E、D214K、D214R、E215K、E215R、K217D、K217E、K218D、K218E、K251D、K251E、D255K、D255R、R306D、R306E、E307K、E307R、K308D、K308E、E309K、E309R、R312D、R312E、D351K、D351R、R352D、R352E、E357K、E357R、E382K、およびE382Rより成る群から選ばれる逆の電荷を持つアミノ酸残基によって置換されている、請求項 8 または 9 に記載の変異体。

【請求項 16】 D214K、D214R、E215K、E215R、K251D、K251E、E357K、およびE357Rより成る群から選ばれる少なくとも1個の置換を有する、請求項 15 記載の変異体。

【請求項 17】 D214K、D214R、K251DおよびK251Eより成る群から選ばれる少なくとも1個の置換を有する、請求項 15 記載の変異体。

【請求項 18】 活性化型において、本明細書の実施例 9 に記載の「APCアミド分解検定」で試験した時に、野生型ヒトAPC活性の少なくとも10%の活性を有する、請求項 1 から 17 のいずれかに記載の変異体。

【請求項 19】 請求項 1 から 18 のいずれかに記載の変異体であって、

a) 活性化型において、 $16.6 \mu M$ のインヒビター濃度を用いて本明細書の実施例 1 1 に記載の「-1-抗トリプシン不活性化検定」で試験した時に、少なくとも20%の残存活性を有するか、または

b) 活性化型において、本明細書の実施例 1 2 に記載の「ヒト血漿不活性化検定」で試験した時に、少なくとも20%の残存活性を有するか、または

c) 本明細書の実施例 1 3 に記載の「ヒト血漿不活性化検定II」で試験した時に、活性化型の該変異体のインビトロ半減期ヒトAPCのインビトロ半減期の比が少なくとも1.25であるか、または

d) 活性化型の該変異体の機能的インビトロ半減期ヒトAPCの機能的インビトロ半減期の比が少なくとも1.25である、変異体。

【請求項 20】 請求項 1 から 19 のいずれかに記載の変異体をコードしているヌクレオチド配列。

【請求項 21】 請求項 20 に記載のヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

【請求項 22】 請求項 20 に記載のヌクレオチド配列または請求項 21 に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 23】 請求項 1 から 19 のいずれかに記載の変異体、および製薬的に許容し得る担体または賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項 24】 卒中；心筋梗塞；静脈血栓症後；汎発性血管内凝固症候群(DIC)；敗血症；敗血症性ショック；塞栓、例えは肺塞栓；移植、例えは骨髄移植；火傷；大手術／外傷または成人呼吸窮迫症候群(ARDS)を処置するための、請求項 2 3 に記載の医薬

組成物。

【請求項25】 敗血症を処置するための、請求項24に記載の医薬組成物。

【請求項26】 卒中；心筋梗塞；静脈血栓症後；汎発性血管内凝固症候群（DIC）；敗血症；敗血症性ショック；塞栓、例えば肺塞栓；移植、例えば骨髄移植；火傷；大手術／外傷または成人呼吸窮迫症候群（ARDS）を処置する医薬を製造するための、請求項1から19のいずれかに記載の変異体の使用。

【請求項27】 敗血症を処置する医薬を製造するための、請求項26に記載の使用。