

【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7月31日(2008.7.31)

【公表番号】特表2008-507300(P2008-507300A)

【公表日】平成20年3月13日(2008.3.13)

【年通号数】公開・登録公報2008-010

【出願番号】特願2007-529867(P2007-529867)

【国際特許分類】

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 N 5/00 B

【手続補正書】

【提出日】平成20年6月11日(2008.6.11)

【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】

組換えタンパク質の発現に適切な条件下で培地中で宿主細胞を培養するステップを含む、組換えタンパク質の作製方法であって、前記宿主細胞が、前記組換えタンパク質をコードする核酸配列を含み、前記宿主細胞が、アポトーシス阻害剤によって改変されていることを特徴とする、組換えタンパク質の作製方法。

【請求項 2】

前記宿主細胞が、リンパ球、上皮細胞、間葉細胞、神経細胞、繊維芽細胞、グリア細胞、網膜細胞、グリオーマ細胞、ミエローマ細胞、悪性リンパ球、悪性上皮細胞、悪性間葉細胞、悪性神経細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記骨髄腫細胞が、S p 2 / 0 細胞もしくはその誘導体、マウス N S O 細胞、ラット Y B 2 / 0 細胞、C H O 細胞、H E K 2 9 3 細胞、C O S - 1 細胞、又は C O S - 7 細胞である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記アポトーシス阻害剤が、前記宿主細胞により発現される異種タンパク質である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記異種タンパク質が、前記宿主細胞の染色体 D N A に組み込まれた核酸配列によりコードされている請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記アポトーシス阻害剤が、乳頭腫ウイルス E 6 タンパク質、乳頭腫ウイルス E 7 タンパク質、乳頭腫ウイルス E 6 タンパク質と E 7 タンパク質の両者、又は B c l - 2 ファミリーからのアポトーシスインヒビターである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

前記アポトーシスインヒビターが、B c l - 2、B c l - x L、B c l - w、B c l - E E E、B h r f 1、K S - B c l - 2、E 1 B - 1 9 K、B c l - 6、および M c l - 1 からなる群から選択される、請求項 6 に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記培地が、少なくとも 1 つのカスパーゼインヒビターをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記カスパーゼインヒビターが、カスパーゼ - 1 インヒビター、カスパーゼ - 3 インヒビター、カスパーゼ - 9 インヒビター、カスパーゼ - 12 インヒビター、pan - カスパーゼインヒビター、Z - VAD - fmk、Ac - DEVO - cho (配列番号 7)、Aven 及び XIAP からなる群から選択される、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記培地が、アポトーシスを阻害し、および / または細胞保護剤として機能する外因的に添加した薬剤をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記外因性薬剤が、サイトカイン I 型スーパーファミリーのメンバー及びエリスロポエチンからなる群から選択される、請求項 10 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記組換えタンパク質が、免疫グロブリン、ペプチド、酵素、成長因子、ホルモン、ワクチン、リンフォカイン、およびサイトカインからなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記組換えタンパク質が、抗体、抗体フラグメント、多重特異性抗体、一本鎖抗体、エリスロポエチン、G - CSF、GM - CSF、EGF、VEGF、トロンボポエチン、IL - 1 ~ IL - 31、インターフェロン、インターフェロン、インターフェロン、およびコンセンサスインターフェロンからなる群から選択される、請求項 12 に記載の方法。

**【請求項 14】**

アポトーシスを阻害する組換えタンパク質をコードする外因性の核酸配列を含む宿主細胞。

**【請求項 15】**

アポトーシスを阻害する前記組換えタンパク質が、乳頭腫ウイルス E6 タンパク質、乳頭腫ウイルス E7 タンパク質、およびアポトーシスインヒビターの Bcl - 2 ファミリー、Bcl - 2、Bcl - xL、Bcl - w、Bcl - EEE、Bhrf1、KS - Bcl - 2、E1B - 19K、Bcl - 6、および Mcl - 1 からなる群から選択される請求項 14 に記載の宿主細胞。

**【請求項 16】**

Sp - E26 又は Sp - EEE である請求項 14 に記載の宿主細胞。

**【請求項 17】**

目的の組換えタンパク質をコードする核酸配列をさらに含む、請求項 14 に記載の宿主細胞。

**【請求項 18】**

前記組換えタンパク質が、免疫グロブリン、ペプチド、酵素、成長因子、ホルモン、ワクチン、リンフォカイン、およびサイトカインからなる群から選択される、請求項 17 に記載の宿主細胞。

**【請求項 19】**

細胞培養物の寿命が、アポトーシス阻害剤により改変されていない宿主細胞と比較して、少なくとも 2 日、少なくとも 4 日、又は少なくとも 6 日増加する、請求項 1 に記載の方法。