



(12) PATENTANSØGNING

Patent- og
Varemærkestyrelsen

(51) Int.Cl⁷: C 07 K 14/435

(21) Patentansøgning nr: PA 2003 01685

(22) Indleveringsdag: 2003-11-12

(24) Løbedag: 1986-08-22

(41) Alm. tilgængelig: 2003-11-12

(83) Deponering af mikroorganismer.

(30) Prioritet: 1985-08-23 US 768,959 1986-03-03 US 835,548

(71) Ansøger: Kirin-Amgen Inc., 1900 Oak Terrace Lane, Thousand Oaks, California 91320, USA

(72) Opfinder: Lawrence M. Souza, 1302 Witherspoon, Thousand Oaks, California 91360, USA

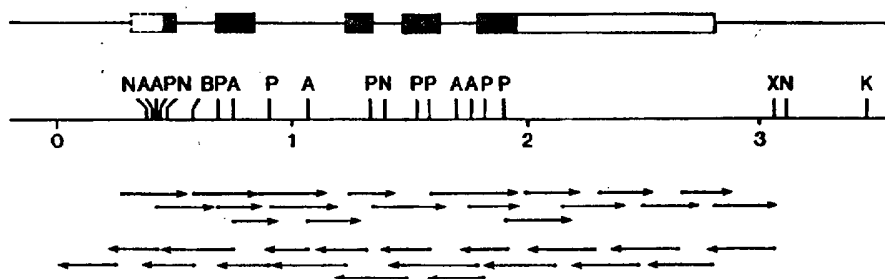
(74) Fuldmægtig: Internationalt Patent-Bureau A/S, Høje Taastrup Boulevard 23, 2630 Taastrup, Danmark

(54) Benævnelse: Isoleret polypeptid med hæmatopoietiske biologiske egenskaber som naturligt forekommende hpG-CSF, DNA-sekvens kodende for denne, plasmider indeholdende sekvensen, hermed transformerede/transficerede værtsceller,

(57) Sammendrag:

Ikke naturligt forekommende isoleret polypeptid med hæmatopoietiske, biologiske egenskaber som naturligt forekommende pluripotent granulocyt kolonistimulerende faktor ("hpG-CSF"), inkluderende alleliske varianter, derivater og sletnings-, substitutions- og additionsanaloger, fremstillet ved prokaryotisk eller eukaryotisk ekspression i egnede værtsceller af en exogen DNA-sekvens via transformation af disse med et autonomt replikerende plasmid eller en viral vektor.

FIG.1



P A T E N T K R A V

1. Isoleret polypeptid med de hæmatopoietiske biologiske egenskaber for naturligt forekommende pluripotent granulocyt kolonistimulerende faktor (hpG-CSF), hvor polypeptidet har en aminosyresekvens valgt blandt den i Tabel VII angivne polypeptidsekvens og en hvilken som helst allelisk variant, et derivat, en sletningsanalog, substitutionsanalog eller additionsanalog deraf, k e n d e t e g n e t ved at være ikke
5 naturligt forekommende og være et produkt af prokaryotisk eller eukaryotisk ekspression af en exogen DNA-sekvens.

2. Ikke naturligt forekommende polypeptid ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at det kun består af den i Tabel VII angivne aminosyresekvens 1-174.

3. Polypeptidanalogue ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at den exogene DNA-sekvens er en cDNA-sekvens.

20 4. Polypeptidanalogue ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at den exogene DNA-sekvens er en genomisk sekvens.

5. Polypeptidanalogue ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at den exogene DNA-sekvens bæres af
25 et autonomt replikerende DNA-plasmid eller viral vektor.

6. Polypeptid ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at være kovalent associeret med en påviselig markørsubstans, især en radioaktiv markør.

7. DNA-sekvens, der ved eksprimering i en prokaryotisk eller eukaryotisk værtscelle koder for et polypeptidprodukt, der besidder i det mindste en del af den primære struktur og de hæmatopoietiske biologiske egenskaber for naturligt forekommende pluripotent granulocyt kolonistimulerende faktor, hvor DNA-sekvensen er kendt ved at kode for et polypeptid med en aminosyresekvens valgt blandt den i Tabel VII angivne polypeptidsekvens og en hvilken som helst allelisk variant, et derivat, en sletningsanalog, substitutionsanalog eller additionsanalog deraf.

8. cDNA-sekvens ifølge krav 7.

9. Genomisk DNA-sekvens ifølge krav 7.

10. DNA-sekvens ifølge krav 7, kendt ved, at den er kovalent associeret med en påviselig markørsubstans, især en radioaktiv markør.

11. Enkeltstrenget DNA-sekvens ifølge krav 10.

12. Biologisk funktionelt plasmid eller viral DNA-vektor, kendt ved, at det inkluderer en DNA-sekvens ifølge krav 7.

13. Prokaryotisk eller eukaryotisk værtscelle, kendt ved, at den er transformeret eller transficeret med en DNA-sekvens ifølge krav 7 på en sådan måde, at værtscellen kan eksprimere det pågældende polypeptidprodukt.

14. Prokaryotisk eller eukaryotisk værtscelle, kendt ved, at den er stabilt transformeret eller transficeret med en DNA-vektor ifølge krav 12.

15. Værtscelle ifølge krav 13 eller 14, kendt ved, at værten er *E. coli*.

16. Værtscelle ifølge krav 13 eller 14, k e n -
d e t e g n e t ved, at værten er en pattedyrscelle.

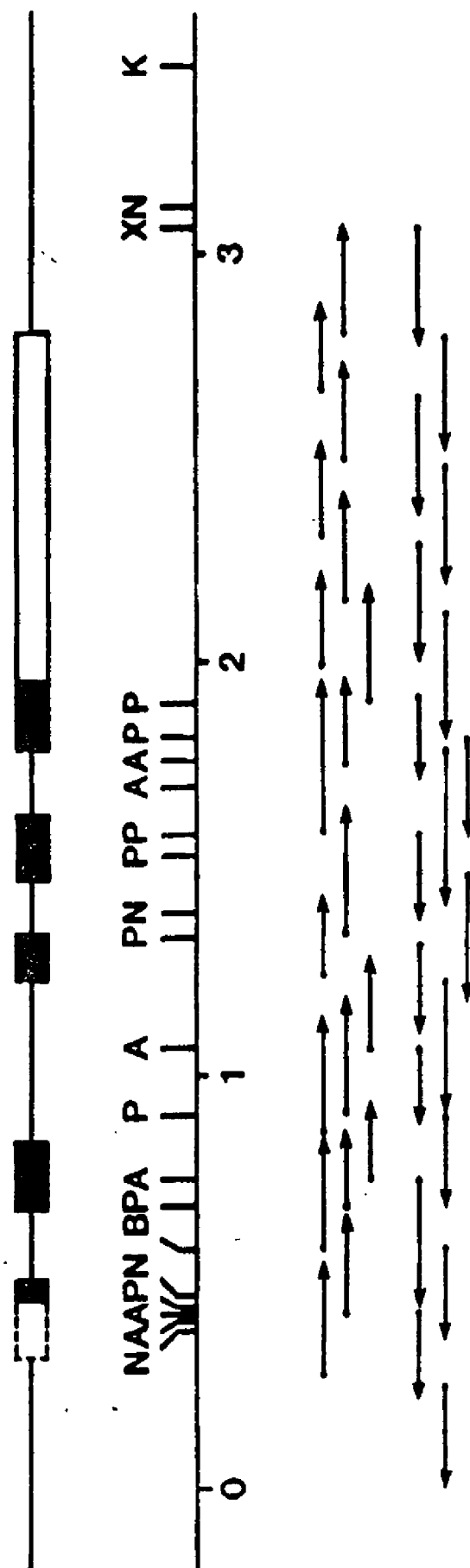
17. Fremgangsmåde til fremstilling af isolerede
polypeptider med de hæmatopoietiske egenskaber for
5 naturligt forekommende human granulocyt kolonistimu-
lerende faktor, hvor polypeptidet har en aminosyrese-
kvens valgt blandt den i Tabel VII angivne polypep-
tidsekvens og en hvilken som helst allelisk variant,
en sletningsanalog, substitutionsanalog eller additi-
10 onsanalog deraf, k e n d e t e g n e t ved, at man
under egnede næringsbetingelser dyrker prokaryotiske
eller især eukaryotiske værtsceller, der er transfor-
meret eller transficeret med en DNA-sekvens ifølge
krav 7 på en sådan måde, at de kan eksprimere det
15 nævnte polypeptid, og at man isolerer det ønskede po-
lypeptidprodukt fra ekspressionen af DNA-sekvensen.

18. Farmaceutisk præparat, k e n d e t e g -
n e t ved, at det omfatter en effektiv mængde af po-
lypeptidet ifølge krav 1 og/eller fremstillet ifølge
20 krav 17, og et farmaceutisk acceptabelt fortyndings-
middel, adjuvans eller bærer.

19. Farmaceutisk præparat ifølge krav 18, yder-
ligere k e n d e t e g n e t ved at være frit for
association med noget som helst humant protein.

25 20. Anvendelse af polypeptidet ifølge krav 1
til fremstilling af et lægemiddel til tilvejebringel-
se af hæmatopoietisk terapi på et pattedyr.

FIG.1



RESTRIKTIONSENDONUCLEASEKORT (delvis) OVER hpG-CSF-GENET