

【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22年3月4日(2010.3.4)

【公表番号】特表2009-521921(P2009-521921A)

【公表日】平成21年6月11日(2009.6.11)

【年通号数】公開・登録公報2009-023

【出願番号】特願2008-548463(P2008-548463)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/435 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 0 8 H 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/435

C 0 7 K 19/00

C 1 2 P 21/02 C

C 0 8 H 1/00

【手続補正書】

【提出日】平成22年1月12日(2010.1.12)

【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】

1 5 0 ~ 4 2 0 アミノ酸残基からなり、式 R E P - C T

[式中、

R E P は、8 0 ~ 3 0 0 アミノ酸残基を有するタンパク質フラグメントであり、ここで、該フラグメントは、 $L(A G)_n L$ 、 $L(A G)_n A L$ 、 $L(G A)_n L$ 、 $L(G A)_n G L$

(ここで、

n は 4 ~ 8 の整数であり；

各個々の A セグメントは、8 ~ 1 8 アミノ酸残基のアミノ酸配列であり、アミノ酸残基の 0 ~ 3 個が A l a ではなく、残りのアミノ酸残基が A l a であり；

各個々の G セグメントは、1 2 ~ 3 0 アミノ酸残基のアミノ酸配列であり、アミノ酸残基の少なくとも 4 0 % が G l y であり；かつ

各個々の L セグメントは、0 ~ 2 0 アミノ酸残基のリンカーアミノ酸配列である) の群から選択され；そして

C T は、7 0 ~ 1 2 0 アミノ酸残基を有するタンパク質フラグメントであり、このフラグメントは大瓶状腺スピドロインタンパク質由来の C 末端フラグメントである]

により定義されることを特徴とする、単離された大瓶状腺スピドロインタンパク質。

【請求項 2】

各個々の A セグメントが、配列番号 3 のアミノ酸残基 7 ~ 1 9、4 3 ~ 5 6、7 1 ~ 8 3、1 0 7 ~ 1 2 0、1 3 5 ~ 1 4 7、1 7 1 ~ 1 8 3、1 9 8 ~ 2 1 1、2 3 5 ~ 2 4 8、2 6 6 ~ 2 7 9、2 9 4 ~ 3 0 6、3 3 0 ~ 3 4 2、3 5 7 ~ 3 7 0、3 9 4 ~ 4 0

6、421～434、458～470、489～502、517～529、553～566、581～594、618～630、648～661、676～688、712～725、740～752、776～789、804～816、840～853、868～880、904～917、932～945、969～981、999～1013、1028～1042、および1060～1073；配列番号9のアミノ酸残基31～42、61～75、90～104、122～135、および153～171；配列番号13のアミノ酸残基12～25、46～60、75～88、112～119、150～158、および173～180；配列番号14のアミノ酸残基31～42；ならびに配列番号15のアミノ酸残基122～135の群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一性を有し、

各個々のGセグメントが、配列番号3のアミノ酸残基20～42、57～70、84～106、121～134、148～170、184～197、212～234、249～265、280～293、307～329、343～356、371～393、407～420、435～457、471～488、503～516、530～552、567～580、595～617、631～647、662～675、689～711、726～739、753～775、790～803、817～839、854～867、881～903、918～931、946～968、982～998、1014～1027、1043～1059、および1074～1092；配列番号5～7；配列番号9のアミノ酸残基11～30、43～60、76～89、105～121、および136～152；ならびに配列番号13のアミノ酸残基1～11、26～45、61～74、89～111、120～149、および159～172の群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一性を有し、そして

CTフラグメントが、配列番号8に対して少なくとも50%の同一性、または配列番号4、配列番号9のアミノ酸残基172～269、配列番号13のアミノ酸残基181～276、および配列番号16のアミノ酸残基172～269からなる群より選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一性を有する、請求項1に記載の単離されたタンパク質。

【請求項3】

配列番号9および配列番号12～16からなる群より選択される、請求項1または2に記載の単離されたタンパク質。

【請求項4】

X-REP-CTおよびREP-CT-X

(式中、

REPおよびCTは請求項1～3のいずれか一項に記載のタンパク質フラグメントであり；そして

Xは融合パートナーおよび切断剤認識部位を含むタンパク質フラグメントであり；

ここで、タンパク質フラグメント結合体REP-CTは切断剤認識部位を介して融合パートナーに結合される)

の群から選択される、単離された融合タンパク質。

【請求項5】

請求項1～3のいずれか一項に記載の大瓶状腺スピドロインタンパク質のポリマー。

【請求項6】

LPSおよび他の発熱物質の含量が1EU/mg単離されたタンパク質またはそれ未満である、請求項1～4のいずれか一項に記載の単離されたタンパク質を含む組成物。

【請求項7】

配列番号1、配列番号2～16をコードする核酸配列、およびそれらの相補的核酸配列、請求項4に記載の融合タンパク質をコードする核酸配列およびそれらの相補的核酸配列からなる群より選択される核酸配列を含む、単離されたポリ核酸分子。

【請求項8】

(i) 請求項4に記載の融合タンパク質をコードするポリ核酸分子を適する宿主におい

て発現させる工程；および

(ii) 工程(i)で得られた可溶性融合タンパク質を単離し、場合により、LPSおよび他の発熱物質の除去を含む工程、
を含む、請求項4に規定された可溶性融合タンパク質の生産方法。

【請求項9】

(i) 請求項4に記載の融合タンパク質の液体媒体中溶液を供給する工程、

(ii) 融合タンパク質の切断剤認識部位での切断を達成するのに適した切断剤を上記液体媒体に加え、それによって大瓶状腺スピドロインタンパク質を得る工程；

(iii) 工程(ii)において得られた大瓶状腺スピドロインタンパク質を液体媒体中で重合させる工程；および、場合により

(iv) 工程(iii)において得られたポリマーを上記液体媒体から単離し、場合により、LPSおよび他の発熱物質の除去を含む工程、

を含む、請求項1～3のいずれか一項に規定された大瓶状腺スピドロインタンパク質のポリマーの生産方法。

【請求項10】

請求項4に記載の融合タンパク質の溶液を供給する工程(i)が、

(a) 請求項4に記載の融合タンパク質をコードするポリ核酸分子を適する宿主において発現させる工程；

(b) 工程(a)において得られた可溶性融合タンパク質を単離し、場合により、LPSおよび他の発熱物質の除去を含む工程；および

(c) 工程(b)において得られた上記可溶性融合タンパク質の液体媒体中溶液を供給する工程、
からなる、請求項1～3に規定した大瓶状腺スピドロインタンパク質のポリマーを生産する請求項9に記載の方法。

【請求項11】

工程(ii)において得られた大瓶状腺スピドロインタンパク質を液体媒体中で重合させる工程(iii)がさらに、該液体媒体と、気相、液相、および固相からなる群より選択される別の相との間の界面を提供することを含み、該重合が該界面または界面付近の領域で開始される、請求項9または10に記載の方法。

【請求項12】

液体媒体が水性媒体であり、別の相が空気および水不混和性の有機溶媒からなる群より選択される、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

クモ系タンパク質をコードする非天然型遺伝子を生産するための、請求項7に記載の単離されたポリ核酸分子の使用。

【請求項14】

ヒト組織工学または誘導細胞再生用の製品の製造のための、請求項1～6のいずれか一項に記載の大瓶状腺スピドロインタンパク質、融合タンパク質、ポリマーまたは組成物の使用。

【請求項15】

請求項5に記載のポリマーを含む物質上で真核細胞を成長させる工程を含む、該細胞の培養方法。

【請求項16】

前記物質が該ポリマーの繊維を含む、請求項15に記載の方法。