

【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28年2月12日(2016.2.12)

【公表番号】特表2015-502167(P2015-502167A)

【公表日】平成27年1月22日(2015.1.22)

【年通号数】公開・登録公報2015-005

【出願番号】特願2014-548013(P2014-548013)

【国際特許分類】

C 12 N 9/48 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 N 15/00 (2006.01)

C 12 P 21/00 (2006.01)

【F I】

C 12 N 9/48

C 12 N 15/00 A

C 12 N 15/00 Z N A

C 12 P 21/00 C

【手続補正書】

【提出日】平成27年12月16日(2015.12.16)

【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】

134位および/または135位における疎水性から親水性荷電アミノ酸への少なくとも1つの置換を含む、ウシエンテロキナーゼ軽鎖類似体。

【請求項2】

112位における置換をさらに含む、請求項1に記載のウシエンテロキナーゼ軽鎖類似体。

【請求項3】

親水性荷電アミノ酸が、リジン、アルギニン、グルタミン酸およびアスパラギン酸からなる群から選択される1つまたは複数のアミノ酸である、請求項1または2に記載のウシエンテロキナーゼ軽鎖類似体。

【請求項4】

変異されるエンテロキナーゼ軽鎖のアミノ酸配列が、配列番号1である、請求項1から3のいずれか一項に記載のウシエンテロキナーゼ軽鎖類似体。

【請求項5】

エンテロキナーゼ軽鎖類似体の再生プロセスにおける改善された溶解性を得る方法であって、野生型ウシエンテロキナーゼ軽鎖の1つまたは複数の疎水性アミノ酸を親水性アミノ酸に変異させるステップと、任意選択で、野生型ウシエンテロキナーゼ軽鎖の他のアミノ酸を変異させるステップを含み、ここで、変異を受ける疎水性アミノ酸は、折り畳まれた野生型ウシエンテロキナーゼ軽鎖の表面上に存在している、方法。

【請求項6】

変異される疎水性アミノ酸が、I、V、L、M、W、F、Aからなる群から選択される、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

親水性アミノ酸が、リジン、アルギニン、グルタミン酸およびアスパラギン酸からなる

群から選択される、請求項5または6に記載の方法。

【請求項8】

変異される疎水性アミノ酸が、11位から14位(アミノ酸AWPW)、78位から80位(アミノ酸IVI)および133位から136位(アミノ酸ALIY)からなる群から選択される1つまたは複数の位置におけるものである、請求項5から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

変異される疎水性アミノ酸が134位および/または135位におけるものである、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

a)インデューサーを含む増殖培地中で、エンテロキナーゼ軽鎖類似体のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド配列を含む宿主細胞を培養するステップ;
b)封入体中にエンテロキナーゼ軽鎖類似体を含む細胞を回収するステップ;
c)エンテロキナーゼ軽鎖類似体を可溶化およびリフォールディングするステップ;および
d)エンテロキナーゼ軽鎖類似体を精製するステップ、を含む
ウシエンテロキナーゼ軽鎖類似体の製造方法。

【請求項11】

ウシエンテロキナーゼ軽鎖類似体が、請求項1から4のいずれか一項に記載の類似体である、請求項10に記載のウシエンテロキナーゼ軽鎖類似体の製造方法。

【請求項12】

細菌または酵母宿主細胞中における、組換えによるペプチドまたはタンパク質の製造方法であって、

a)製造するペプチドまたはタンパク質を含む融合タンパク質を酵母または細菌中で発現させるステップ;
b)融合タンパク質を請求項1から4のいずれか一項に記載のウシエンテロキナーゼ軽鎖類似体により切断するステップ;および
c)生成したペプチドまたはタンパク質を単離するステップ、を含む方法。

【請求項13】

ステップa)において発現した融合タンパク質が、Asp-Asp-Asp-Asp-Lys切断部位をさらに含む、請求項12に記載の組換えによるペプチドまたはタンパク質の製造方法。

【請求項14】

宿主細胞が、大腸菌である、請求項12または13に記載の組換えによるペプチドまたはタンパク質の製造方法。

【請求項15】

製造されるペプチドまたはタンパク質が、GLP-1ペプチドである、請求項12から14のいずれか一項に記載の組換えによるペプチドまたはタンパク質の製造方法。