

【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3部門第2区分

【発行日】平成27年12月10日(2015.12.10)

【公開番号】特開2015-110650(P2015-110650A)

【公開日】平成27年6月18日(2015.6.18)

【年通号数】公開・登録公報2015-039

【出願番号】特願2015-28632(P2015-28632)

【国際特許分類】

C 0 7 K	14/535	(2006.01)
C 0 7 K	14/475	(2006.01)
C 0 7 K	14/52	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 P	19/44	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/27	(2006.01)
A 6 1 K	38/21	(2006.01)
A 6 1 P	5/06	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	14/535	Z N A
C 0 7 K	14/475	
C 0 7 K	14/52	
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 1 2 P	19/44	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	37/36	
A 6 1 K	37/66	G
A 6 1 P	5/06	
A 6 1 P	43/00	1 0 7

【手続補正書】

【提出日】平成27年10月21日(2015.10.21)

【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】

変異ペプチド配列を含む単離されたG - C S Fポリペプチドであって、前記変異ペプチド配列が、前記単離されたポリペプチドに対応する野生型ポリペプチドには存在しないO結合型グリコシル化部位をコードし、前記O結合型グリコシル化部位が、プロリン残基からの距離がアミノ酸残基10個未満であり、前記結合型グリコシル化部位が、G a 1 N A c - トランスフェラーゼによって認識される、単離されたG - C S Fポリペプチド。

【請求項2】

前記G - C S Fポリペプチドが、M<sup>1</sup> X<sub>n</sub> T P L G PまたはM<sup>1</sup> B<sub>0</sub> P Z<sub>m</sub> X<sub>n</sub> T P L G P

(式中、上付き文字は、野生型 G - C S F アミノ酸配列(配列番号3)におけるそのアミノ酸の位置を示し、下付き文字nおよびmは、0~3から選択される整数であり、

XおよびBのうちの少なくとも1つはThrまたはSerであり、

XおよびBのうちの複数がThrまたはSerであるとき、これらの部分のアイデンティティは独立に選択され、

Zは、グルタミン酸または任意の非荷電アミノ酸から選択される)  
の式で表される変異ペプチド配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

#### 【請求項3】

前記変異ペプチド配列が、M V T P L G P、M Q T P L G P、M I A T P L G P、M A T P L G P、M P T Q G A M P L G P、M V Q T P L G P、M Q S T P L G P、M G Q T P L G P、M A P T S S S P L G P、およびM A P T P L G P A からなる配列群から選択される、請求項2に記載の変異G - C S F ポリペプチド。

#### 【請求項4】

前記G - C S F ポリペプチドが、M<sup>1</sup> T P X<sub>n</sub> B<sub>o</sub> O<sub>r</sub> P

(式中、上付き文字は、配列番号3におけるそのアミノ酸の位置を示し、下付き文字n、o、およびrは、0~3から選択される整数であり、

X、B、およびOのうちの少なくとも1つはThrまたはSerであり、

X、B、およびOのうちの複数がThrまたはSerであるとき、これらの部分のアイデンティティはそれぞれ独立に選択される)

の式で表される変異ペプチド配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

#### 【請求項5】

前記変異ペプチド配列が、M T P T L G P、M T P T Q L G P、M T P T S L G P、M T P T Q G P、M T P T S S P、M<sup>1</sup> T P Q T P、M<sup>1</sup> T P T G P、M<sup>1</sup> T P L T P、M<sup>1</sup> T P N T G P、M T P L G P (G - C S F mut #4)、M<sup>1</sup> T P V T P、M<sup>1</sup> T P M V T P、およびM T<sup>1</sup> P<sup>2</sup> T Q G L<sup>3</sup> G<sup>4</sup> P<sup>5</sup> A<sup>6</sup> S<sup>7</sup> からなる配列群から選択される、請求項4に記載のポリペプチド。

#### 【請求項6】

前記G - C S F ポリペプチドが、L G X<sup>5</sup> B<sub>o</sub> L G I

(式中、上付き文字は、野生型G - C S F アミノ酸配列(配列番号3)におけるそのアミノ酸の位置を示し、

Xは、ヒスチジン、セリン、アルギニン、グルタミン酸、またはチロシンであり、

Bは、トレオニンまたはセリンであり、

oは、0~3の整数である)

の式で表される変異ペプチド配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

#### 【請求項7】

前記変異ペプチド配列が、L G H T L G I、L G S S L G I、L G Y S L G I、L G E S L G I、およびL G S T L G I からなる配列群から選択される、請求項6に記載のポリペプチド。

#### 【請求項8】

前記G - C S F ポリペプチドが、P<sup>1</sup> Z<sub>m</sub> J<sub>q</sub> O<sub>r</sub> X<sub>n</sub> P T

(式中、上付き文字は、野生型G - C S F アミノ酸配列(配列番号3)におけるそのアミノ酸の位置を示し、

Z、J、O、およびXは、ThrまたはSerからそれぞれ独立に選択され、

m、q、r、およびnは、0~3からそれぞれ独立に選択される整数である)

の式で表される変異ペプチド配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

#### 【請求項9】

前記変異ペプチド配列が、P<sup>1</sup> A T Q P T、P<sup>1</sup> T L G P T、P<sup>1</sup> T Q G P T、P<sup>1</sup> T S S P T、P<sup>1</sup> T Q G A P T、P<sup>1</sup> N T G P T、P A L Q P T Q T、P<sup>1</sup> A L T P T、P<sup>1</sup> M V T P T、P<sup>1</sup> A S S T P T、P<sup>1</sup> T T Q P、P<sup>1</sup> N T L P、P<sup>1</sup> T L Q P、M A P<sup>1</sup> A T Q P T Q G A M、および

M P <sup>1 2 9</sup> A T T Q P T Q G A M からなる配列群から選択される、請求項8に記載のポリペプチド。

【請求項 1 0】

前記 G - C S F ポリペプチドが、P Z <sub>m</sub> U <sub>s</sub> J <sub>q</sub> P <sup>6 1</sup> O <sub>r</sub> X <sub>n</sub> B <sub>o</sub> C  
(式中、上付き文字は、野生型 G - C S F アミノ酸配列(配列番号 3)におけるそのアミノ酸の位置を示し、

Z、J、O、およびUのうちの少なくとも 1 つは、トレオニンまたはセリンから選択され、

Z、J、O、およびUのうちの複数がトレオニンまたはセリンであるとき、各々はそれぞれ独立に選択され、

m、s、q、r、n、およびoは、0 ~ 3 からそれぞれ独立に選択される整数である)の式で表される変異ペプチド配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 1 1】

前記変異ペプチド配列が、P <sup>6 1</sup> T S S C、P <sup>6 1</sup> T S S A C、L G I P T A P <sup>6 1</sup> L S S C、L G I P T Q P <sup>6 1</sup> L S S C、L G I P T Q G P <sup>6 1</sup> L S S C、L G I P Q T P <sup>6 1</sup> L S S C、L G I P T S P <sup>6 1</sup> L S S C、L G I P T S P <sup>6 1</sup> L S S C、L G I P T Q P <sup>6 1</sup> L S S C、L G T P W A P <sup>6 1</sup> L S S C、L G T P F A P <sup>6 1</sup> L S S C、P <sup>6 1</sup> F T P、および S L G A P <sup>5 8</sup> T A P <sup>6 1</sup> L S S からなる配列群から選択される、請求項1 0に記載のポリペプチド。

【請求項 1 2】

前記 G - C S F ポリペプチドが、<sub>a</sub> G <sub>p</sub> J <sub>q</sub> O <sub>r</sub> P <sup>1 7 5</sup> X <sub>n</sub> B <sub>o</sub> Z <sub>m</sub> U <sub>s</sub> <sub>t</sub>  
(式中、上付き文字は、野生型 G - C S F アミノ酸配列(配列番号 3)におけるそのアミノ酸の位置を示し、

Z、U、O、J、G、、B、およびXのうちの少なくとも 1 つはトレオニンまたはセリンであり、

Z、U、O、J、G、、B、およびXのうちの複数がトレオニンまたはセリンであるとき、それらはそれぞれ独立に選択され、

は場合によっては R であり、G は場合によっては H であり、

記号 <sub>a</sub> は、任意の非荷電アミノ酸残基またはグルタミン酸を表し、a、p、q、r、n、o、m、s、およびtは、0 ~ 3 からそれぞれ独立に選択される整数である)の式で表される変異ペプチド配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 1 3】

前記変異ペプチド配列が、R H L A Q T P <sup>1 7 5</sup>、R H L A G Q T P <sup>1 7 5</sup>、Q P <sup>1 7</sup> 5 T Q G A M P、R H L A Q T P <sup>1 7 5</sup> A M、Q P <sup>1 7 5</sup> T S S A P、Q P <sup>1 7 5</sup> T S S A P、Q P <sup>1 7 5</sup> T Q G A M P、Q P <sup>1 7 5</sup> T Q G A M、Q P <sup>1 7 5</sup> T Q G A、Q P <sup>1 7</sup> 5 T V M、Q P <sup>1 7 5</sup> N T G P、および Q P <sup>1 7 5</sup> Q T L P からなる配列群から選択される、請求項1 2に記載のポリペプチド。

【請求項 1 4】

配列 P <sup>1 3 3</sup> T Q T A M P <sup>1 3 9</sup>、P <sup>1 3 3</sup> T Q G T M P、P <sup>1 3 3</sup> T Q G T N P、P <sup>1 3 3</sup> T Q G T L P、および P A L Q P <sup>1 3 3</sup> T Q T A M P A から選択される変異ペプチド配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項 1 5】

請求項 1 に記載のポリペプチドをコードする単離された核酸。

【請求項 1 6】

請求項1 5に記載の核酸を含む発現力セット。

【請求項 1 7】

請求項1 5に記載の核酸を含む細胞。

【請求項 1 8】

以下から選択される式を有する、請求項 1 に記載のポリペプチド

## 【化1】



(式中、AAは、前記変異ペプチド配列の内部にある、ヒドロキシル部分を含むアミノ酸側鎖であり、Xは、修飾基またはサッカリル部分である)。

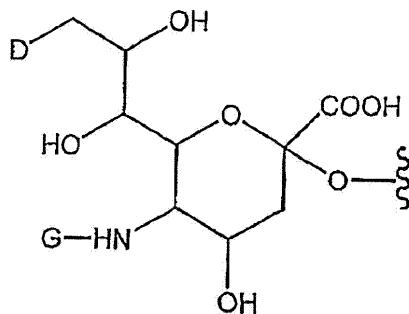
## 【請求項19】

Xが、シアリル、ガラクトシル、およびGal-Sia部分から選択される基を含み、前記シアリル、ガラクトシル、およびGal-Siaのうちの少なくとも1つが修飾基を含む、請求項18に記載のポリペプチド。

## 【請求項20】

Xが以下の部分

## 【化2】



(式中、Dは、-OHおよびR<sup>1</sup>-L-HN-から選択されるメンバーであり、Gは、R<sup>1</sup>-L-および-C(O)(C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>)アルキルから選択されるメンバーであり、

R<sup>1</sup>は、直鎖状または分枝状のポリ(エチレングリコール)残基を含む部分から選択されるメンバーを含む部分であり、

Lは、結合、置換または非置換のアルキル、および置換または非置換のヘテロアルキルから選択されるメンバーであるリンカーであり、

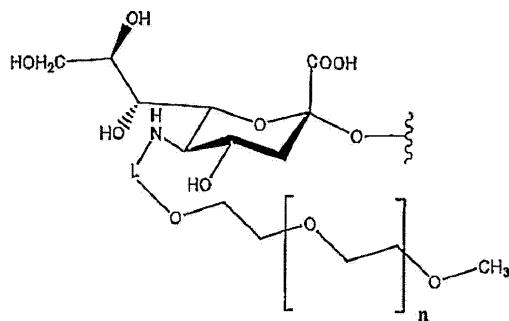
DがOHであるとき、GはR<sup>1</sup>-L-であり、Gが-C(O)(C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>)アルキルであるとき、DはR<sup>1</sup>-L-NH-である)

を含む、請求項18に記載のポリペプチド。

## 【請求項21】

Xが以下の構造

## 【化3】

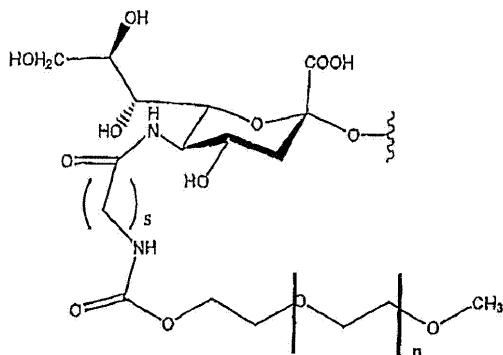


(式中、Lは、置換もしくは非置換のアルキル、または置換もしくは非置換のヘテロアルキル基であり、nは、0~約500の整数から選択される)

を含む、請求項18に記載のポリペプチド。

## 【請求項22】

X が以下の構造  
【化 4】



(式中、 $s$  は、0 ~ 20 の整数から選択される)

を含む、請求項 1 8 に記載のポリペプチド。

### 【請求項 2 3】

請求項1に記載のポリペプチドの複合糖質を作製する方法であって、

(a) 遺伝子組換えによってポリペプチドを生産するステップと、

(b) 前記O結合型グリコシル化部位において、修飾された糖で前記ポリペプチドを酵素的にグリコシル化するステップと、を含む方法。

### 【請求項 24】

修飾された糖と複合糖質を形成している請求項1に記載のポリペプチドを有効量含む、顆粒球コロニーステム因子(G-CSF)の医薬組成物。

### 【請求項 25】

前記修飾された糖が、ポリ(エチレングリコール)およびメトキシポリ(エチレングリコール)(m-PEG)から選択されるメンバーで修飾されている、請求項24に記載の医薬組成物。

### 【請求項 26】

治療を必要とする対象に G - C S F による治療を提供する方法であって、請求項 24 に記載の医薬組成物を有効量、前記対象に投与するステップを含む方法。