

【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 l 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、 $M^1 X_n T P L G P$ または $M^1 B_o P Z_m X_n T P L G P$

(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 T h r または S e r であり、

X および B のうちの複数が T h r または S e r 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、 $M^1 T P X_n B_o O_r P$

(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 T h r または S e r であり、

X、B、および O のうちの複数が T h r または S e r 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、 $M^1 T P Q T P$ 、 $M^1 T P T G P$ 、 $M^1 T P L T P$ 、 $M^1 T P N T G P$ 、M T P L G P (G - C S F mut # 4)、 $M^1 T P V T P$ 、 $M^1 T P M V T P$ 、および $M T^1 P^2 T Q G L^3 G^4 P^5 A^6 S^7$ 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、 $L G X^5_3 B_o L G I$

(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、 $P^{1\ 2\ 9} Z_m J_q O_r X_n P T$

(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、T h r または S e r 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、 $P^{1\ 2\ 9} A T Q P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} T L G P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} T Q G P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} T S S P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} T Q G A P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} N T G P T$ 、 $P A L Q P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} A L T P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} M V T P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} A S S T P T$ 、 $P^{1\ 2\ 9} T T Q P$ 、 $P^{1\ 2\ 9} N T L P$ 、 $P^{1\ 2\ 9} T L Q P$ 、 $M A P^{1\ 2\ 9} A T Q P T Q G A M$ 、および

MP^{1 2 9}ATTQTQTGAM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10】

前記G-C_sSFポリペプチドが、PZ_mU_sJ_qP^{6 1}O_rX_nB_oC

(式中、上付き文字は、野生型G-C_sSF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11】

前記変異ペプチド配列が、P^{6 1}TSSC、P^{6 1}TSSAC、LGIP_{TA}P^{6 1}LSSC、LGIP_{TQ}P^{6 1}LSSC、LGIP_{TQG}P^{6 1}LSSC、LGIP_{QT}P^{6 1}LSSC、LGIP_{TS}P^{6 1}LSSC、LGIP_{TS}P^{6 1}LSSC、LGIP_{TQP}P^{6 1}LSSC、LGTP_{WAP}P^{6 1}LSSC、LGTP_{FAP}P^{6 1}LSSC、P^{6 1}FTP、およびSLGAP^{5 8}TAP^{6 1}LSSからなる配列群から選択される、請求項10に記載のポリペプチド。

【請求項12】

前記G-C_sSFポリペプチドが、_aG_pJ_qO_rP^{1 7 5}X_nB_oZ_mU_s_t

(式中、上付き文字は、野生型G-C_sSF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13】

前記変異ペプチド配列が、RH_{LA}QTP^{1 7 5}、RH_{LAG}QTP^{1 7 5}、QP^{1 7 5}TQ_{GAMP}、RH_{LA}QTP^{1 7 5}AM、QP^{1 7 5}TSSAP、QP^{1 7 5}TSSAP、QP^{1 7 5}TQ_{GAMP}、QP^{1 7 5}TQ_{GAM}、QP^{1 7 5}TQ_{GA}、QP^{1 7 5}TVM、QP^{1 7 5}NTGP、およびQP^{1 7 5}QTL_Pからなる配列群から選択される、請求項12に記載のポリペプチド。

【請求項14】

配列P^{1 3 3}TQ_{TAMP}^{1 3 9}、P^{1 3 3}TQ_{GTMP}、P^{1 3 3}TQ_{GTNP}、P^{1 3 3}TQ_{GTL}P、およびPALQP^{1 3 3}TQ_{TAMPA}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15】

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16】

請求項15に記載の核酸を含む発現カセット。

【請求項17】

請求項15に記載の核酸を含む細胞。

【請求項18】

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)。

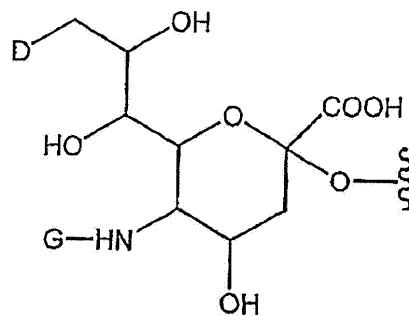
【請求項 19】

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R¹-L-HN-から選択されるメンバーであり、Gは、R¹-L-および-C(O)(C₁~C₆)アルキルから選択されるメンバーであり、

R¹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、

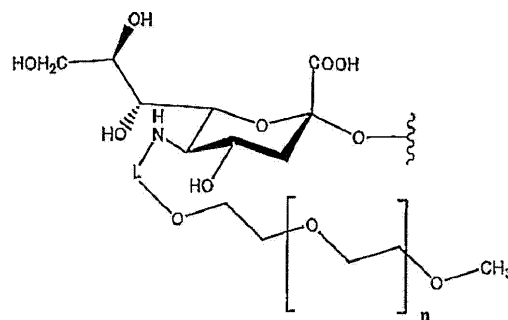
Lは、結合、置換または非置換のアルキル、および置換または非置換のヘテロアルキルから選択されるメンバーであるリンカーであり、

DがOHであるとき、GはR¹-L-であり、Gが-C(O)(C₁~C₆)アルキルであるとき、DはR¹-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】



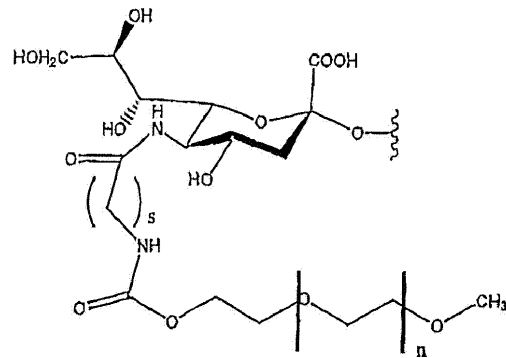
(式中、Lは、置換もしくは非置換のアルキル、または置換もしくは非置換のヘテロアルキル基であり、nは、0~約500の整数から選択される)

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 18 に記載のポリペプチド。

【請求項 23】

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、顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F) 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 - P E G) 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。