

【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27年3月5日 (2015.3.5)

【公表番号】特表2014-506452(P2014-506452A)

【公表日】平成26年3月17日 (2014.3.17)

【年通号数】公開・登録公報2014-014

【出願番号】特願2013-550573(P2013-550573)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 5/00 1 0 2

C 0 7 K 16/46

C 0 7 K 19/00

A 6 1 P 7/06

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成27年1月16日 (2015.1.16)

【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】

配列番号 9 の配列と 95 % 同一の融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体を含む組成物。

【請求項 2】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体が、サイズ排除クロマトグラフィーによって決定すると少なくとも 98 % 純粋である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体がグリコシル化されている、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

グリコシル化パターンが哺乳類のグリコシル化パターンである、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

アスパラギン 83、アスパラギン 178 および / またはアスパラギン 337 がグリコシル化されている、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

グリコシル化パターンがチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株に由来するものである、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 7】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体の N 末端アミノ酸がグルタミンである、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体の N 末端アミノ酸の N 末端が Q C K I L R C N A E（配列番号 10）である、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

配列番号 9 の断片が配列番号 9 の N 末端の 150 個のアミノ酸を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

組成物が実質的に発熱物質を含まない、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 11】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体の血清半減期が少なくとも 10 時間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 12】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体が、少なくとも  $10^{-7}$  M の  $K_D$  で骨形態形成タンパク質 - 6（「BMP - 6」）に結合し、かつ、BMP - 6 シグナル伝達を阻害する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

組成物が、投与された時に対象のヘモグロビンおよび / またはヘマトクリットを増加させる、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 14】

組成物が、貧血の対象に 1 か月以上投与された時に、貧血の対象のヘモグロビンおよび / またはヘマトクリットを少なくとも正常レベルまで増加させる、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 15】

融合タンパク質がホモ二量体を形成している、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 16】

ホモ二量体が F c ヒンジ領域内に形成されている、請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

ホモ二量体がジスルフィド結合によって F c ヒンジ領域内のシステインの間に形成されている、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

請求項 1 に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子。

【請求項 19】

核酸分子が配列番号 11 の配列と 95 % 同一の配列を含む、請求項 18 に記載の核酸分子。

【請求項 20】

請求項 19 に記載の核酸配列を含む哺乳類細胞。

【請求項 21】

細胞が CHO 細胞である、請求項 20 に記載の哺乳類細胞。

【請求項 22】

鉄恒常性障害を治療するための、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 23】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体を含む組成物であって、融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体もしくはペプチド模倣体が N 末端ポリペプチドおよび C 末端ポリペプチドを含み、N 末端ポリペプ

チドが配列番号 1 の配列と 95 % 同一の配列を含み、かつ、C 末端ペプチドが配列番号 3、4、5、6、および 7 からなる群から選択される配列と 95 % 同一の配列を含む組成物。

【請求項 24】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体が、サイズ排除クロマトグラフィーによって決定すると少なくとも 98 % 純粋である、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 25】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体がグリコシル化されている、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 26】

グリコシル化パターンが哺乳類のグリコシル化パターンである、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 27】

グリコシル化パターンがチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞株に由来するものである、請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 28】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体の N 末端アミノ酸がグルタミンである、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 29】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体の N 末端アミノ酸の N 末端が Q C K I L R C N A E (配列番号 10) である、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

組成物が実質的に発熱物質を含まない、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 31】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体の血清半減期が少なくとも 10 時間である、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 32】

融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体が、少なくとも  $10^{-7}$  M の  $K_D$  で骨形態形成タンパク質 - 6 (「BMP - 6」) に結合し、かつ、BMP - 6 シグナル伝達を阻害する、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 33】

組成物が、投与された時に対象のヘマトクリットを増加させる、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 34】

組成物が、貧血の対象に 1 か月以上投与された時に、貧血の対象のヘマトクリットを少なくとも正常レベルまで増加させる、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 35】

融合タンパク質がホモ二量体を形成している、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 36】

請求項 23 に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子。

【請求項 37】

核酸が配列番号 11 の核酸配列を含む、請求項 36 に記載の核酸。

【請求項 38】

請求項 36 に記載の核酸配列を含む哺乳類細胞。

【請求項 39】

細胞が CHO 細胞である、請求項 38 に記載の哺乳類細胞。

【請求項 40】

鉄恒常性障害を治療および / または貧血を改善するための、請求項 21 に記載の組成物

°

## 【請求項 4 1】

癌を治療するための、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 4 2】

癌を治療するための、請求項 2 3 に記載の組成物。

## 【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 6】

本開示は、融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体を含む組成物であって、融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体が N 末端ポリペプチドおよび C 末端ポリペプチドを含み、N 末端ポリペプチドが配列番号 1 の配列と 9 5 % 同一の配列を含み、かつ、C 末端ペプチドが配列番号 3、4、5、6 および 7 からなる群から選択される配列と 9 5 % 同一の配列を含む組成物も提供する。1 つの実施態様では、融合タンパク質、またはそれに由来する変異体、誘導体、断片もしくはペプチド模倣体は、サイズ排除クロマトグラフィーによって決定すると少なくとも 9 8 % 純粋である。

## 【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 4 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 4 5】

特定の実施態様では、本開示の融合タンパク質の I g G F c 部分は、本開示の融合タンパク質の H J V 部分と融合した時に、水溶液に可溶であり、鉄を動員することができ、および / または鉄代謝疾患と関連する少なくとも 1 つの症状を治療もしくは改善することができる、配列番号 3 のいずれかの断片である。本開示の融合タンパク質の I g G F c 部分を構成する配列番号 3 の断片は、配列番号 3 の 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0、1 1 0、1 2 0、1 3 0、1 4 0、1 5 0、1 6 0、1 7 0、1 8 0、1 9 0、2 0 0、2 1 0、2 2 0 または 2 3 0 個のアミノ酸の断片を含む。特定の実施態様では、本開示の融合タンパク質の I g G F c 部分は、配列番号 3 の断片と 8 0、8 5、9 0、9 5、9 7、9 8、または 9 9 % を超える同一性を有し、断片は、配列番号 3 の 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0、1 1 0、1 2 0、1 3 0、1 4 0、1 5 0、1 6 0、1 7 0、1 8 0、1 9 0、2 0 0、2 1 0、2 2 0、または 2 3 0 個のアミノ酸を含む。

## 【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 4 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 4 6】

本開示の融合タンパク質の I g G F c 部分を構成する配列番号 3 の断片は、配列番号 3 の 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0、1 1 0、1 2 0、1 3 0、1 4 0、1 5 0、1 6 0、1 7 0、1 8 0、1 9 0、2 0 0、2 1 0、2 2 0 または 2 3 0 個の連続したアミノ酸の断片を含む。特定の実施態様では、本開示の融合タンパク質の I g G F c 部分は、配列番号 3 の断片と 8 0、8 5、9 0、9 5、9 7、9 8、または 9 9 % を超える同一性を有し、断片は、配列番号 3 の 1 0、2 0、3 0、4 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0、1 1 0、1 2 0、1 3 0、1 4 0、1 5 0、

160、170、180、190、200、210、220、または230個の連続したアミノ酸を含む。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0055

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0055】

二量体化

特定の実施態様では、融合タンパク質は2つの同一のポリペプチドサブユニットを含む二量体の形態である。図2に模式的に示している実施態様では、各ポリペプチドサブユニットは、N末端からC末端まで、以下に示す配列番号9のポリペプチド配列を含む。

【表3】

表3. 本発明のHJV.Fc融合タンパク質のアミノ酸配列 (596アミノ酸；配列番号9)					
10	20	30	40	50	60
QCKILRCNAE	YVSSTLSLRG	GGSSGALRGG	GGGGRGGGVG	SGGLCRALRS	YALCTRRRTAR
70	80	90	100	110	120
TCRGDLAFHS	AVHGIEDLMI	QHNCSRQGPT	APPPPRGPAL	PGAGSGLPAP	DPCDYEGRFS
130	140	150	160	170	180
RLHGRPPGFL	HCASFGDPHV	RSFHHHFHTC	RVQGAWPLLD	NDFLFVQATS	SPMALGANAT
190	200	210	220	230	240
ATRKLTIIFK	NMQECIDQKV	YQAEVDNLPV	AFEDGSINGG	DRPGGSSLSI	QTANPGNHVE
250	260	270	280	290	300
IQAAAYIGTTI	IIRQTAGQLS	FSIKVAEDVA	MAFSAEQDLQ	LCVGGCPSQ	RLSRSENRNR
310	320	330	340	350	360
GAITIDTARR	LCKEGLPVED	AYFHSCVFDV	LISGDPNFTV	AAQAALEDAR	AFLPDLEKLH
370	380	390	400	410	420
LFPSDPKSCD	KPHTCPLCPA	PELLGGPSVF	LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVDVSHEDP
430	440	450	460	470	480
EVKFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQYNSTYR	VVSVLTVLHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKALPAP
490	500	510	520	530	540
IEKTISKAKG	QPREPQVYTL	PPSRDELTKN	QVSLTCLVKG	FYPSDIAVEW	ESNGQPENNY
550	560	570	580	590	596
KATPPVLDS	GSFFLYSKLT	VDKSRWQQGN	VFSCSVMHEA	LHNHYTQKSL	SLSPGK

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2014506452000001.app