

【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】令和2年11月19日(2020.11.19)

【公表番号】特表2020-509761(P2020-509761A)

【公表日】令和2年4月2日(2020.4.2)

【年通号数】公開・登録公報2020-013

【出願番号】特願2019-549510(P2019-549510)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/62 (2006.01)
 C 0 7 K 14/575 (2006.01)
 C 0 7 K 16/00 (2006.01)
 C 0 7 K 14/50 (2006.01)
 C 0 7 K 19/00 (2006.01)
 C 0 7 K 7/06 (2006.01)
 C 0 7 K 7/08 (2006.01)
 C 1 2 N 15/16 (2006.01)
 C 1 2 N 15/19 (2006.01)
 C 1 2 N 15/13 (2006.01)
 C 1 2 N 15/63 (2006.01)
 C 1 2 N 1/15 (2006.01)
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 1 2 P 21/02 (2006.01)
 C 1 2 N 15/10 (2006.01)
 A 6 1 P 3/00 (2006.01)
 A 6 1 P 3/10 (2006.01)
 A 6 1 P 3/04 (2006.01)
 A 6 1 P 3/06 (2006.01)
 A 6 1 P 1/16 (2006.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 A 6 1 K 47/55 (2017.01)
 A 6 1 K 47/62 (2017.01)
 A 6 1 K 47/65 (2017.01)
 A 6 1 K 38/22 (2006.01)
 A 6 1 K 38/18 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/62 Z
 C 0 7 K 14/575 Z N A
 C 0 7 K 16/00
 C 0 7 K 14/50
 C 0 7 K 19/00
 C 0 7 K 7/06
 C 0 7 K 7/08
 C 1 2 N 15/16
 C 1 2 N 15/19
 C 1 2 N 15/13
 C 1 2 N 15/63 Z
 C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 P 21/02 C
 C 1 2 P 21/02 H
 C 1 2 N 15/10 2 0 0 Z
 A 6 1 P 3/00
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 3/04
 A 6 1 P 3/06
 A 6 1 P 1/16
 A 6 1 K 47/68
 A 6 1 K 47/55
 A 6 1 K 47/62
 A 6 1 K 47/65
 A 6 1 K 38/22
 A 6 1 K 38/18

【手続補正書】

【提出日】令和2年10月8日(2020.10.8)

【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】

第1のポリペプチドであるグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) またはそのアナログ、第2のポリペプチドである I g G 4 F c 部分、および第3のポリペプチドである線維芽細胞増殖因子21 (FGF21) またはそのバリエーションを含むか、またはそれらからなる融合タンパク質において、第1のポリペプチドが第2のポリペプチドに第1のリンカーを介して連結され、第3のポリペプチドが第2のポリペプチドに第2のリンカーを介して連結され、前記 I g G 4 F c 部分が、下記の変異の組み合わせの1つを含む、融合タンパク質：

野生型 I g G 4 F c と比較しての、

1) S 2 2 8 P および R 4 0 9 K ;2) S 2 2 8 P、E 2 3 3 P および R 4 0 9 K ;3) S 2 2 8 P、N 2 9 7 A および R 4 0 9 K ;4) S 2 2 8 P、F 2 3 4 A、L 2 3 5 A および R 4 0 9 K ;5) S 2 2 8 P、F 2 3 4 V、L 2 3 5 E および R 4 0 9 K ; ならびに6) S 2 2 8 P、F 2 3 4 A、L 2 3 5 A、R 4 0 9 K および K 4 4 7。

【請求項2】

I g G 4 F c 部分が、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項3】

GLP-1のアナログが、配列番号7 (H X₁ E G T F T S D V S S Y L E X₂ Q A A K E F I A W L X₃ X₄ G X₅ X₆) [ここで、X₁はGまたはVから選択され；X₂はEまたはGから選択され；X₃はVまたはKから選択され；X₄はKまたはNから選択され；X₅はGまたはEから選択され；X₆はG、Pまたは不存在から選択される]のアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項4】

GLP-1のアナログが、配列番号1のアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項5】

FGF21のバリエーションが、少なくとも1つのアミノ酸変異を170位、171位または172位に含み、ここで、

170位のアミノ酸変異は、G170E、G170A、G170C、G170D、G170N、およびG170Sからなる群から選択され；

171位のアミノ酸変異は、P171A、P171E、P171H、P171Q、P171T、P171Y、P171W、P171C、P171G、P171S、およびP171Tからなる群から選択され；

172位のアミノ酸変異は、S172L、S172I、S172V、S172A、およびS172Mからなる群から選択される、

請求項1に記載の融合タンパク質。

【請求項6】

FGF21のバリエーションが、さらに1つまたはそれ以上の変異を、45位、98位、100位、150位、151位、152位、167位、175位、179位および180位からなる群から選択される1つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、

45位のアミノ酸変異は、A45K、A45R、A45E、およびA45Qからなる群から選択され；

98位のアミノ酸変異は、L98D、L98R、L98E、L98Q、L98K、およびL98Tからなる群から選択され；

100位のアミノ酸変異はL100Kであり；

150位のアミノ酸変異はP150Aであり；

151位のアミノ酸変異はG151Aであり；

152位のアミノ酸変異はI152Vであり；

167位のアミノ酸変異は、S167H、S167C、またはS167Rからなる群から選択され；

175位のアミノ酸変異は、R175L、R175H、またはR175Pからなる群から選択され；

179位のアミノ酸変異は、Y179S、Y179A、およびY179Fからなる群から選択され；

180位のアミノ酸変異は、A180S、A180E、およびA180Gからなる群から選択される、

請求項5に記載の融合タンパク質。

【請求項7】

FGF21のバリエーションが、少なくともアミノ酸変異を98位または171位の1つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、

98位のアミノ酸変異は、L98D、およびL98Rからなる群から選択され；

171位のアミノ酸変異は、P171A、およびP171Gからなる群から選択される、請求項5に記載の融合タンパク質。

【請求項8】

FGF21のバリエーションが、さらに1つまたはそれ以上の変異を、167位、175位および179位からなる群から選択される1つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、

167位のアミノ酸変異は、S167H、およびS167Cからなる群から選択され；

175位のアミノ酸変異は、R175L、R175H、およびP175Pからなる群から選択され；

179位のアミノ酸変異は、Y179S、およびY179Fからなる群から選択される、請求項7に記載の融合タンパク質。

【請求項9】

第1のリンカーおよび第2のリンカーがそれぞれ、5～50アミノ酸残基のポリペプチドを含み、該ポリペプチドは少なくとも50%のGを含む、請求項1～8のいずれかに記載の融合タンパク質。

【請求項10】

第1のリンカーおよび/または第2のリンカーがそれぞれ独立に、1、2または3のGリッチポリペプチドを含む、請求項9に記載の融合タンパク質。

【請求項11】

第1のリンカーおよび第2のリンカーがそれぞれ独立に、GGGGSGGGGS、GGGGSGGGGS、またはGGGGSGGGGS Aから選択される、請求項9に記載の融合タンパク質。

【請求項12】

融合タンパク質が、ホモ二量体融合タンパク質または非ホモ二量体融合タンパク質である、請求項1～11のいずれかに記載の融合タンパク質。

【請求項13】

請求項1～12のいずれかに記載の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項14】

請求項13に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項15】

請求項14に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項16】

請求項15に記載のベクターを宿主細胞において発現させることを含む、請求項1～12のいずれかに記載の融合タンパク質を製造する方法。

【請求項17】

請求項1～12のいずれかに記載の融合タンパク質、および場合により1つまたはそれ以上の薬学的に許容しうる添加剤を含む医薬組成物。

【請求項18】

代謝疾患の処置において使用するための、請求項1～12のいずれかに記載の融合タンパク質または請求項17に記載の医薬組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0035

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0035】

本発明の他の一側面において、代謝疾患の処置のための融合タンパク質または医薬組成物が提供される。代謝疾患は、糖尿病、肥満および脂肪肝から選択しうる。

本発明の側面をさらに記載する：

[項1]

第1のポリペプチドであるグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) またはそのアナログ、第2のポリペプチドであるIgG4Fc部分、および第3のポリペプチドである線維芽細胞増殖因子21 (FGF21) またはそのバリエーションを含むか、またはそれらからなる融合タンパク質において、第1のポリペプチドが第2のポリペプチドに第1のリンカーを介して連結され、第3のポリペプチドが第2のポリペプチドに第2のリンカーを介して連結され、野生型IgG4Fcと比較して、前記IgG4Fc部分の228位のセリンがプロリンで置換され、前記IgG4Fc部分の409位のアルギニンがリジンで置換されている、融合タンパク質。

[項2]

IgG4Fc部分が、野生型IgG4Fcと比較しての、E233P、F234VもしくはF234A、L235EまたはL235A、N297A、またはK447から選択される1つまたはそれ以上の変異をさらに含む、上記項1に記載の融合タンパク質。

[項 3]

I g G 4 F c 部分が、下記の変異の組み合わせの1つをさらに含む、上記項1に記載の融合タンパク質：

野生型 I g G 4 F c と比較しての、

- 1) S 2 2 8 P および R 4 0 9 K ;
- 2) S 2 2 8 P、E 2 3 3 P および R 4 0 9 K ;
- 3) S 2 2 8 P、N 2 9 7 A および R 4 0 9 K ;
- 4) S 2 2 8 P、F 2 3 4 A、L 2 3 5 A および R 4 0 9 K ;
- 5) S 2 2 8 P、F 2 3 4 V、L 2 3 5 E および R 4 0 9 K ; ならびに
- 6) S 2 2 8 P、F 2 3 4 A、L 2 3 5 A、R 4 0 9 K および K 4 4 7。

[項 4]

I g G 4 F c 部分が、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、上記項1に記載の融合タンパク質。

[項 5]

G L P - 1 のアナログが、配列番号7 (H X ₁ E G T F T S D V S S Y L E X ₂ Q A A K E F I A W L X ₃ X ₄ G X ₅ X ₆) [ここで、X ₁ は G または V から選択され ; X ₂ は E または G から選択され ; X ₃ は V または K から選択され ; X ₄ は K または N から選択され ; X ₅ は G または E から選択され ; X ₆ は G、P または不存在から選択される] のアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、上記項1に記載の融合タンパク質。

[項 6]

G L P - 1 のアナログが、配列番号1のアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、上記項1に記載の融合タンパク質。

[項 7]

F G F 2 1 のバリエントが、少なくとも1つのアミノ酸変異を170位、171位または172位に含み、ここで、

170位のアミノ酸変異は、G 1 7 0 E、G 1 7 0 A、G 1 7 0 C、G 1 7 0 D、G 1 7 0 N、およびG 1 7 0 S からなる群から選択され ;

171位のアミノ酸変異は、P 1 7 1 A、P 1 7 1 E、P 1 7 1 H、P 1 7 1 Q、P 1 7 1 T、P 1 7 1 Y、P 1 7 1 W、P 1 7 1 C、P 1 7 1 G、P 1 7 1 S、およびP 1 7 1 T からなる群から選択され ;

172位のアミノ酸変異は、S 1 7 2 L、S 1 7 2 I、S 1 7 2 V、S 1 7 2 A、およびS 1 7 2 M からなる群から選択される、

上記項1に記載の融合タンパク質。

[項 8]

F G F 2 1 のバリエントが、少なくとも1つのアミノ酸変異を170位または171位または172位に含み、ここで、

170位のアミノ酸変異は、G 1 7 0 E、G 1 7 0 A、G 1 7 0 D、およびG 1 7 0 S からなる群から選択され ;

171位のアミノ酸変異は、P 1 7 1 A、P 1 7 1 E、P 1 7 1 Q、P 1 7 1 W、P 1 7 1 C、P 1 7 1 G、およびP 1 7 1 T からなる群から選択され ;

172位のアミノ酸変異は、S 1 7 2 L、S 1 7 2 V、およびS 1 7 2 M からなる群から選択される、

上記項7に記載の融合タンパク質。

[項 9]

F G F 2 1 のバリエントが、少なくとも1つのアミノ酸変異を170位または171位または172位に含み、ここで、

170位のアミノ酸変異は、G 1 7 0 E、およびG 1 7 0 A からなる群から選択され ;

171位のアミノ酸変異は、P 1 7 1 A、P 1 7 1 C、およびP 1 7 1 G からなる群から選択され ;

172位のアミノ酸変異は、S 1 7 2 L である、

上記項 7 に記載の融合タンパク質。

[項 1 0]

F G F 2 1 のバリエントが、さらに 1 つまたはそれ以上の変異を、4 5 位、9 8 位、1 0 0 位、1 5 0 位、1 5 1 位、1 5 2 位、1 6 7 位、1 7 5 位、1 7 9 位および 1 8 0 位からなる群から選択される 1 つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、

4 5 位のアミノ酸変異は、A 4 5 K、A 4 5 R、A 4 5 E、および A 4 5 Q からなる群から選択され；

9 8 位のアミノ酸変異は、L 9 8 D、L 9 8 R、L 9 8 E、L 9 8 Q、L 9 8 K、および L 9 8 T からなる群から選択され；

1 0 0 位のアミノ酸変異は L 1 0 0 K であり；

1 5 0 位のアミノ酸変異は P 1 5 0 A であり；

1 5 1 位のアミノ酸変異は G 1 5 1 A であり；

1 5 2 位のアミノ酸変異は I 1 5 2 V であり；

1 6 7 位のアミノ酸変異は、S 1 6 7 H、S 1 6 7 C、または S 1 6 7 R からなる群から選択され；

1 7 5 位のアミノ酸変異は、R 1 7 5 L、R 1 7 5 H、または R 1 7 5 P からなる群から選択され；

1 7 9 位のアミノ酸変異は、Y 1 7 9 S、Y 1 7 9 A、および Y 1 7 9 F からなる群から選択され；

1 8 0 位のアミノ酸変異は、A 1 8 0 S、A 1 8 0 E、および A 1 8 0 G からなる群から選択される、

上記項 7 に記載の融合タンパク質。

[項 1 1]

F G F 2 1 のバリエントが、さらに 1 つまたはそれ以上の変異を、4 5 位、9 8 位、1 6 7 位、1 7 5 位、1 7 9 位および 1 8 0 位からなる群から選択される 1 つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、

4 5 位のアミノ酸変異は、A 4 5 K、A 4 5 R、A 4 5 E、および A 4 5 Q からなる群から選択され；

9 8 位のアミノ酸変異は、L 9 8 D、L 9 8 R、L 9 8 E、L 9 8 Q、L 9 8 K、および L 9 8 T からなる群から選択され；

1 6 7 位のアミノ酸変異は、S 1 6 7 H、または S 1 6 7 C であり；

1 7 5 位のアミノ酸変異は、R 1 7 5 L、または R 1 7 5 H であり；

1 7 9 位のアミノ酸変異は、Y 1 7 9 S、Y 1 7 9 A、および Y 1 7 9 F からなる群から選択され；

1 8 0 位のアミノ酸変異は、A 1 8 0 S、A 1 8 0 E、および A 1 8 0 G からなる群から選択される、

上記項 7 に記載の融合タンパク質。

[項 1 2]

F G F 2 1 のバリエントが、さらに 1 つまたはそれ以上の変異を、9 8 位、1 6 7 位、1 7 5 位および 1 7 9 位からなる群から選択される 1 つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、

9 8 位のアミノ酸変異は、L 9 8 D、および L 9 8 R からなる群から選択され；

1 6 7 位のアミノ酸変異は、S 1 6 7 H であり；

1 7 5 位のアミノ酸変異は、R 1 7 5 L であり；

1 7 9 位のアミノ酸変異は、Y 1 7 9 F である、

上記項 7 に記載の融合タンパク質。

[項 1 3]

F G F 2 1 のバリエントが、少なくともアミノ酸変異を 9 8 位または 1 7 1 位の 1 つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、

9 8 位のアミノ酸変異は、L 9 8 D、および L 9 8 R からなる群から選択され；

171位のアミノ酸変異は、P171A、およびP171Gからなる群から選択される、上記項7に記載の融合タンパク質。

[項14]

FGF21のバリエーションが、さらに1つまたはそれ以上の変異を、167位、175位および179位からなる群から選択される1つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、167位のアミノ酸変異は、S167H、およびS167Cからなる群から選択され；175位のアミノ酸変異は、R175L、R175H、およびP175Pからなる群から選択され；

179位のアミノ酸変異は、Y179S、およびY179Fからなる群から選択される、上記項13に記載の融合タンパク質。

[項15]

FGF21のバリエーションが、さらに1つまたはそれ以上の変異を、167位、175位および179位からなる群から選択される1つまたはそれ以上の位置に含み、ここで、167位のアミノ酸変異は、S167Hであり；175位のアミノ酸変異は、R175Lであり；179位のアミノ酸変異は、Y179Fである、上記項13に記載の融合タンパク質。

[項16]

第1のリンカーおよび第2のリンカーがそれぞれ、5～50アミノ酸残基のポリペプチドを含み、該ポリペプチドは少なくとも50%のGを含む、上記項1～15のいずれかに記載の融合タンパク質。

[項17]

第1のリンカーおよび/または第2のリンカーがそれぞれ独立に、1、2または3のGリッチポリペプチドを含む、上記項16に記載の融合タンパク質。

[項18]

第1のリンカーおよび第2のリンカーがそれぞれ独立に、GGGGSGGGGS、GGGGSGGGGS、またはGGGGSGGGGS Aから選択される、上記項16に記載の融合タンパク質。

[項19]

融合タンパク質が、ホモ二量体融合タンパク質または非ホモ二量体融合タンパク質である、上記項1～18のいずれかに記載の融合タンパク質。

[項20]

上記項1～19のいずれかに記載の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド。

[項21]

上記項20に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

[項22]

上記項21に記載のベクターを含む宿主細胞。

[項23]

上記項22に記載のベクターを宿主細胞において発現させることを含む、上記項1～19のいずれかに記載の融合タンパク質を製造する方法。

[項24]

上記項1～19のいずれかに記載の融合タンパク質、および場合により1つまたはそれ以上の薬学的に許容しうる添加剤を含む医薬組成物。

[項25]

上記項1～19のいずれかに記載の融合タンパク質の、代謝疾患の処置に使用される医薬組成物の製造における使用。

[項26]

代謝疾患が、糖尿病、肥満および脂肪肝から選択される、上記項25に記載の使用。

[項27]

上記項1～19のいずれかに記載の融合タンパク質または上記項24に記載の医薬組成

物を処置有効量で患者に投与することを含む、代謝疾患を処置する方法。

[項 2 8]

代謝疾患の処置において使用するための、上記項 1 ~ 1 9 のいずれかに記載の融合タンパク質または上記項 2 4 に記載の医薬組成物。