

【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20年7月3日(2008.7.3)

【公表番号】特表2004-508014(P2004-508014A)

【公表日】平成16年3月18日(2004.3.18)

【年通号数】公開・登録公報2004-011

【出願番号】特願2001-585144(P2001-585144)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 1/02 (2006.01)

C 0 7 K 14/00 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 1/02

C 0 7 K 14/00

C 1 2 P 21/02 C

【手続補正書】

【提出日】平成20年5月14日(2008.5.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 成長ホルモンスーパー遺伝子ファミリーのメンバーであり、1個または複数の追加の遊離システイン残基を有する不溶性または凝集性タンパク質のリフォールディングされた可溶性の形を調製する方法であって、

(a) 1個または複数の追加の遊離システイン残基を有し成長ホルモンスーパー遺伝子ファミリーのメンバーであるタンパク質を不溶性または凝集性の形で宿主細胞に発現させるステップと、

(b) 化学的、酵素的または物理的手段で細胞を溶解するステップと、

(c) 不溶性または凝集性タンパク質を変性剤、還元剤およびシステイン・ブロッキング剤に暴露することによって不溶性または凝集性タンパク質を可溶化するステップと、

(d) 変性剤および還元剤の濃度を、タンパク質を可溶性で生物学的に活性な形に再生させるのに十分なレベルまで低下させることにより、タンパク質をリフォールディングするステップとを含む方法。

【請求項2】 前記システイン・ブロッキング剤が、システイン、システアミン、還元型グルタチオンまたはチオグリコール酸からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記ステップ(c)の前記還元剤および前記システイン・ブロッキング剤が同一の化合物である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】 前記システイン・ブロッキング剤が、システイン、システアミン、還元型グルタチオンまたはチオグリコール酸からなる群から選択される、請求項3に記載の方法。

【請求項5】 ステップ(c)の前記システイン・ブロッキング剤が、還元された場合にシステイン・ブロッキング剤としての役割を果たすジチオールである、請求項1に記載の方法。

【請求項6】 成長ホルモンスーパー遺伝子ファミリーのメンバーが、成長ホルモン、プロラクチン、胎盤ラクトゲン、エリスロポエチン、トロンプオエチン、インターロイキン-2、インターロイキン-3、インターロイキン-4、インターロイキン-5、インターロイキン-6、インターロイキン-7、インターロイキン-9、インターロイキン-10、インターロイキン-11、インターロイキン-12（p35サブユニット）、インターロイキン-13、インターロイキン-15、IL-19、IL-20、オンコスタチンM、毛様体神経栄養因子、白血病抑制因子、 α -インターフェロン、 β -インターフェロン、 γ -インターフェロン、 ω -インターフェロン、 τ -インターフェロン、顆粒球コロニー刺激因子、顆粒球マクロファージ・コロニー刺激因子、カルジオトロフィニン-1、マクロファージ・コロニー刺激因子、幹細胞刺激因子およびflt3リガンドからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項7】 システイン反応性部分を前記単離タンパク質に結合させてシステイン修飾タンパク質を生成することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項8】 システイン反応性ポリエチレン・グリコール成分を前記単離タンパク質中のシステイン残基に結合させてpeg化タンパク質を生成することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項9】 抗血管新生因子であり、1個または複数の追加の遊離システイン残基を有する不溶性または凝集性タンパク質のリフォールディングされた可溶性の形を調製する方法であって、

(a) 1個または複数の追加の遊離システイン残基を有し抗血管新生因子であるタンパク質を不溶性または凝集性の形で宿主細胞に発現させるステップと、

(b) 化学的、酵素的または物理的手段で細胞を溶解するステップと、

(c) 不溶性または凝集性タンパク質を変性剤、還元剤およびシステイン・ブロッキング剤に暴露することによって不溶性または凝集性タンパク質を可溶化するステップと、

(d) 変性剤および還元剤の濃度を、タンパク質を可溶性で生物学的に活性な形に再生させるのに十分なレベルまで低下させることによりタンパク質をリフォールディングするステップとを含む方法。

【請求項10】 前記抗血管新生因子はエンドスタチン、アンジオスタチン、または血管内皮成長因子（VEGF）受容体の細胞外領域である請求項9に記載の方法。