

【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 26 年 5 月 29 日 (2014.5.29)

【公開番号】特開 2013-63093 (P2013-63093A)  
 【公開日】平成 25 年 4 月 11 日 (2013.4.11)  
 【年通号数】公開・登録公報 2013-017  
 【出願番号】特願 2013-4389 (P2013-4389)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 14/00 Z N A

【手続補正書】  
 【提出日】平成 26 年 4 月 10 日 (2014.4.10)  
 【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】

野生型タンパク質の超荷電タンパク質変異体であって、前記超荷電タンパク質変異体は、野生型配列と比べて、修飾された一次アミノ酸配列を含み、その結果：

( 1 ) 前記超荷電タンパク質変異体上の正味電荷が、生理学的な pH において - 1 0 未満であり、ここで前記超荷電タンパク質変異体の生理学的な pH における前記正味電荷が、前記野生型配列と比べて少なくとも - 3 減少していることをもたらすか；または

( 2 ) 前記超荷電タンパク質変異体上の正味電荷が、生理学的な pH において + 1 0 超であり、ここで前記超荷電タンパク質変異体の生理学的な pH における前記正味電荷が、前記野生型配列と比べて少なくとも + 3 増加していることをもたらす、超荷電タンパク質変異体。

【請求項 2】

前記正味電荷の範囲が、生理学的な pH において - 4 0 ~ - 1 0 である、請求項 1 に記載の超荷電タンパク質変異体。

【請求項 3】

前記正味電荷の範囲が、生理学的な pH において + 1 0 ~ + 5 2 である、請求項 1 に記載の超荷電タンパク質変異体。

【請求項 4】

前記超荷電タンパク質変異体の生理学的な pH における前記正味電荷が、前記野生型配列と比べて少なくとも + 4、少なくとも + 5、少なくとも + 1 0、少なくとも + 1 5、少なくとも + 2 0、少なくとも + 2 5、少なくとも + 3 0 または少なくとも + 3 5 増加している、請求項 1 に記載の超荷電タンパク質変異体。

【請求項 5】

前記超荷電タンパク質変異体の生理学的な pH における前記正味電荷が、前記野生型配列と比べて少なくとも - 4、少なくとも - 5、少なくとも - 1 0、少なくとも - 1 5、少なくとも - 2 0、少なくとも - 2 5、少なくとも - 3 0 または少なくとも - 3 5 減少している、請求項 1 に記載の超荷電タンパク質変異体。

【請求項 6】

前記超荷電タンパク質変異体が、前記野生型タンパク質の活性の少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも90%または少なくとも95%を維持する、請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項7】**

前記野生型タンパク質が、ヒトタンパク質である、請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項8】**

前記野生型タンパク質が、免疫グロブリンまたはその断片である、請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項9】**

前記免疫グロブリンまたはその断片が、ヒトのものであるかまたはヒト化されたものである、請求項8に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項10】**

前記変異体が融合タンパク質である、請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項11】**

前記融合タンパク質がリンカーを含む、請求項10に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項12】**

前記超荷電タンパク質変異体の前記修飾された一次アミノ酸配列が、前記野生型タンパク質の少なくとも1個の表面残基の、リジン残基、ヒスチジン残基またはアルギニン残基での置換を含む、請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項13】**

前記超荷電タンパク質変異体の前記修飾された一次アミノ酸配列が、前記野生型タンパク質の少なくとも1個の表面残基の、アスパラギン酸残基またはグルタミン酸残基での置換を含む、請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項14】**

前記超荷電タンパク質変異体の前記修飾された一次アミノ酸配列が、前記野生型タンパク質の少なくとも2個、少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも20個、または少なくとも30個の表面残基の、別の残基での置換を含む、請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体。

**【請求項15】**

請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体を調製する方法であって、前記方法は：

対象タンパク質に関連する他のタンパク質の中で高度に保存されていない、前記対象タンパク質の表面残基を同定する工程と；

複数の非保存表面残基を、生理学的なpHで正に荷電したアミノ酸残基で置換する工程と、  
を包含する、方法。

**【請求項16】**

請求項1に記載の超荷電タンパク質変異体を調製する方法であって、前記方法は：

対象タンパク質に関連する他のタンパク質の中で高度に保存されていない、前記対象タンパク質の表面残基を同定する工程と；

複数の非保存表面残基を、生理学的なpHで負に荷電したアミノ酸残基で置換する工程と、  
を包含する、方法。

**【請求項17】**

対象タンパク質の安定性を改善する方法であって、前記方法は：

対象タンパク質に関連する他のタンパク質の中で高度に保存されていない、前記対象タンパク質の表面残基を同定する工程と；

複数の非保存表面残基を、生理学的なpHで正に荷電したアミノ酸残基で置換する工程と、  
を包含する、方法。

**【請求項 18】**

対象タンパク質の安定性を改善する方法であって、前記方法は：

対象タンパク質の表面残基を同定する工程と；

前記対象タンパク質に関連する他のタンパク質の中で高度に保存されていない、前記対象タンパク質の表面残基を同定する工程と；

前記同定した非保存表面残基のそれぞれに疎水性値を割り当てる工程と；

少なくとも1個の表面残基を、生理学的なpHで荷電したアミノ酸残基で置換する工程であって、置換されている前記残基がすべて同じ型の残基に変異し、前記残基の型が正に荷電した残基であるか、または負に荷電した残基のいずれかである、工程と、  
を包含する、方法。

**【請求項 19】**

以下のアミノ酸配列：

**【化 1】**

MGHHHHHHGGAKAGITGTWYNQLGSTFIVTAGAKGALTGTYESAVGNAKSRVLTGR  
YDSAPATKGSGTALGWTVAWKNKYRNAHSATTWSGQYVGGAKARINTQWLLTSGTT  
KAKAWKSTLVGHDTFTKVKPSAAS

を有するストレプトアビジンタンパク質（+52 SAV）。

**【請求項 20】**

請求項 19 に記載のストレプトアビジンタンパク質（+52 SAV）をコードするポリヌクレオチド。

**【請求項 21】**

請求項 20 に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。