

【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23年9月1日(2011.9.1)

【公表番号】特表2010-534061(P2010-534061A)

【公表日】平成22年11月4日(2010.11.4)

【年通号数】公開・登録公報2010-044

【出願番号】特願2010-517023(P2010-517023)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	14/28	(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 0 7 K	16/12	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 0 7 K	14/28	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 0 7 K	16/12	
C 0 7 K	19/00	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
C 1 2 P	21/08	

【手続補正書】

【提出日】平成23年7月15日(2011.7.15)

【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】

SEQ ID NO: 1と80%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、組換えコレラ菌(*Vibrio cholerae*)外毒素(VCE)。

【請求項2】

前記アミノ酸配列がSEQ ID NO: 1と90%よりも高い配列同一性を有する、請求項1記載のVCE。

【請求項3】

前記アミノ酸配列がSEQ ID NO: 1と95%よりも高い同一性を有する、請求項1記載のVCE。
。

【請求項4】

前記アミノ酸配列がSEQ ID NO: 1と100%の配列同一性を有する、請求項1記載のVCE。

【請求項5】

請求項1記載のVCEをコードする配列を含むベクター。

【請求項6】

請求項1記載のVCEをコードする配列を含む宿主細胞。

【請求項7】

請求項1記載のVCEに特異的に結合する抗体。

【請求項8】

モノクローナル抗体である、請求項7記載の抗体。

【請求項9】

VCEの断片を含むタンパク質であって、該断片がSEQ ID NO: 2と80%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、タンパク質。

【請求項10】

前記断片がSEQ ID NO: 2と90%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項9記載のタンパク質。

【請求項11】

前記断片がSEQ ID NO: 2と95%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項9記載のタンパク質。

【請求項12】

前記断片がSEQ ID NO: 2と100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項9記載のタンパク質。

【請求項13】

前記断片がADPリボシル化活性を含む、請求項9記載のタンパク質。

【請求項14】

細胞膜トランスロケーション活性を含む、請求項13記載のタンパク質。

【請求項15】

前記断片が前記細胞膜トランスロケーション活性を有するVCE細胞膜トランスロケーションドメインを含む、請求項14記載のタンパク質。

【請求項16】

前記断片の天然のフリン切断部位が修飾可能な活性化ドメインで置き換えられており、該修飾可能な活性化ドメインが外因性酵素の基質を含む、請求項15記載のタンパク質。

【請求項17】

前記修飾可能な活性化ドメインがグランザイムB活性の基質を含む、請求項16記載のタンパク質。

【請求項18】

VCE細胞結合ドメインを含まない、請求項14記載のタンパク質。

【請求項19】

請求項9記載のタンパク質をコードする配列を含むベクター。

【請求項20】

請求項9記載のタンパク質をコードする配列を含む宿主細胞。

【請求項21】

請求項9記載のタンパク質を特異的に結合する抗体。

【請求項22】

融合タンパク質である、請求項9記載のタンパク質。

【請求項23】

非天然の細胞標的化部分を含む、請求項22記載の融合タンパク質。

【請求項24】

前記非天然の細胞標的化部分が抗体、またはその機能性断片である、請求項23記載の融合タンパク質。

【請求項 2 5】

前記非天然の細胞標的化部分が人工的に多様化したポリペプチド結合因子である、請求項23記載の融合タンパク質。

【請求項 2 6】

前記非天然の細胞標的化部分が受容体のリガンドである、請求項23記載の融合タンパク質。

【請求項 2 7】

前記非天然の細胞標的化部分が、癌細胞上で発現される細胞表面標的を認識する、請求項23記載の融合タンパク質。

【請求項 2 8】

前記非天然の細胞標的化部分が、造血細胞、リンパ球、および侵害受容ニューロンからなる群より選択される細胞を認識する、請求項23記載の融合タンパク質。

【請求項 2 9】

修飾可能な活性化ドメインをさらに含む融合タンパク質であって、該修飾可能な活性化ドメインが外因性酵素の基質を含む、請求項22記載の融合タンパク質。

【請求項 3 0】

前記酵素がプロテアーゼである、請求項29記載の融合タンパク質。

【請求項 3 1】

前記プロテアーゼが外因性ヒトプロテアーゼである、請求項30記載の融合タンパク質。

【請求項 3 2】

前記プロテアーゼが非ヒトプロテアーゼである、請求項30記載の融合タンパク質。

【請求項 3 3】

前記プロテアーゼが非哺乳動物プロテアーゼである、請求項32記載の融合タンパク質。

【請求項 3 4】

前記プロテアーゼがウイルスプロテアーゼである、請求項33記載の融合タンパク質。

【請求項 3 5】

前記修飾可能な活性化ドメインがプロテアーゼ切断部位の翻訳後修飾を含む、請求項29記載の融合タンパク質。

【請求項 3 6】

前記修飾可能な活性化ドメインが翻訳後修飾を除去可能な酵素の基質を含む、請求項29記載の融合タンパク質。

【請求項 3 7】

前記修飾可能な活性化ドメインがグランザイムB活性の基質を含む、請求項29記載の融合タンパク質。

【請求項 3 8】

標的細胞を破壊するための薬学的組成物であって、VCEの断片を含むタンパク質を含み、該断片はSEQ ID NO: 2と80%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、薬学的組成物。

【請求項 3 9】

前記断片がSEQ ID NO: 2と90%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項38記載の薬学的組成物。

【請求項 4 0】

前記断片がSEQ ID NO: 2と95%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項38記載の薬学的組成物。

【請求項 4 1】

前記断片がSEQ ID NO: 2と100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項38記載の薬学的組成物。

【請求項 4 2】

前記断片がADPリボシル化活性を含む、請求項38記載の薬学的組成物。

【請求項 4 3】

タンパク質が細胞膜トランスロケーション活性を含む、請求項42記載の薬学的組成物。

【請求項44】

前記断片が前記細胞膜トランスロケーション活性を有するVCE細胞膜トランスロケーションドメインを含む、請求項43記載の薬学的組成物。

【請求項45】

前記断片の天然のフリン切断部位が修飾可能な活性化ドメインで置き換えられており、該修飾可能な活性化ドメインが外因性酵素の基質を含む、請求項44記載の薬学的組成物。

【請求項46】

前記修飾可能な活性化ドメインがグランザイムB活性の基質を含む、請求項45記載の薬学的組成物。

【請求項47】

前記タンパク質がVCE細胞結合ドメインを含まない、請求項43記載の薬学的組成物。

【請求項48】

前記タンパク質が融合タンパク質である、請求項38記載の薬学的組成物。

【請求項49】

前記融合タンパク質が非天然の細胞標的化部分を含む、請求項48記載の薬学的組成物。

【請求項50】

前記非天然の細胞標的化部分が抗体、またはその機能性断片である、請求項49記載の薬学的組成物。

【請求項51】

前記非天然の細胞標的化部分が人工的に多様化したポリペプチド結合因子である、請求項49記載の薬学的組成物。

【請求項52】

前記非天然の細胞標的化部分が受容体のリガンドである、請求項49記載の薬学的組成物。

。

【請求項53】

前記非天然の細胞標的化部分が癌細胞上で発現される細胞表面標的を認識する、請求項49記載の薬学的組成物。

【請求項54】

前記非天然の細胞標的化部分が造血細胞、リンパ球、および侵害受容ニューロンからなる群より選択される細胞を認識する、請求項49記載の薬学的組成物。

【請求項55】

前記融合タンパク質が修飾可能な活性化ドメインをさらに含み、該修飾可能な活性化ドメインは外因性酵素の基質を含む、請求項48記載の薬学的組成物。

【請求項56】

前記酵素がプロテアーゼである、請求項55記載の薬学的組成物。

【請求項57】

前記プロテアーゼが外因性ヒトプロテアーゼである、請求項56記載の薬学的組成物。

【請求項58】

前記プロテアーゼが非ヒトプロテアーゼである、請求項56記載の薬学的組成物。

【請求項59】

前記プロテアーゼが非哺乳動物プロテアーゼである、請求項58記載の薬学的組成物。

【請求項60】

前記プロテアーゼがウイルスプロテアーゼである、請求項59記載の薬学的組成物。

【請求項61】

前記修飾可能な活性化ドメインがプロテアーゼ切断部位の翻訳後修飾を含む、請求項55記載の薬学的組成物。

【請求項62】

前記修飾可能な活性化ドメインが翻訳後修飾を除去可能な酵素の基質を含む、請求項55記載の薬学的組成物。

【請求項 6 3】

前記修飾可能な活性化ドメインがグランザイムB活性の基質を含む、請求項55記載の薬学的組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 6 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 6 3】

「癌細胞」なる用語は、組織における不適当な蓄積によって特徴づけられる細胞集団の成分を意味する。この不適当な蓄積は、細胞集団の1つまたは複数の細胞で起こる遺伝的または後成的変動の結果でありうる。この遺伝的または後成的変動は、細胞集団の細胞が周囲の正常組織よりも速く成長する、ゆっくり死滅する、またはゆっくり分化する原因となる。本明細書において用いられる「癌細胞」なる用語は、悪性細胞の成長または生存を支持する細胞も含む。そのような支持細胞には、線維芽細胞、血管もしくはリンパ管内皮細胞、炎症細胞または悪性細胞の成長もしくは生存に有利な同時に拡大する非腫瘍性細胞が含まれうる。「癌細胞」なる用語は、造血、上皮、内皮、または固形組織起源の癌を含むことになる。「癌細胞」なる用語は、癌幹細胞も含むことになる。本発明の融合タンパク質が標的とする癌細胞には表1に示すものが含まれる。

[請求項101]

SEQ ID NO: 1と80%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、組換えコレラ菌(Vibrio cholerae)外毒素(VCE)。

[請求項102]

前記アミノ酸配列がSEQ ID NO: 1と90%よりも高い配列同一性を有する、請求項101記載のVCE。

[請求項103]

前記アミノ酸配列がSEQ ID NO: 1と95%よりも高い同一性を有する、請求項101記載のVCE。

[請求項104]

前記アミノ酸配列がSEQ ID NO: 1と100%の配列同一性を有する、請求項101記載のVCE。

[請求項105]

請求項101記載のVCEをコードする配列を含むベクター。

[請求項106]

請求項101記載のVCEをコードする配列を含む宿主細胞。

[請求項107]

請求項101記載のVCEに特異的に結合する抗体。

[請求項108]

モノクローナル抗体である、請求項107記載の抗体。

[請求項109]

VCEの断片を含むタンパク質であって、該断片がSEQ ID NO: 2と80%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、タンパク質。

[請求項110]

前記断片がSEQ ID NO: 2と90%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項109記載のタンパク質。

[請求項111]

前記断片がSEQ ID NO: 2と95%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項109記載のタンパク質。

[請求項112]

前記断片がSEQ ID NO: 2と100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項109記載のタンパク質。

[請求項113]

前記断片がADPリボシル化活性を含む、請求項109記載のタンパク質。

[請求項114]

細胞膜トランスロケーション活性を含む、請求項113記載のタンパク質。

[請求項115]

前記断片が前記細胞膜トランスロケーション活性を有するVCE細胞膜トランスロケーションドメインを含む、請求項114記載のタンパク質。

[請求項116]

前記断片の天然のフリン切断部位が修飾可能な活性化ドメインで置き換えられており、該修飾可能な活性化ドメインが外因性酵素の基質を含む、請求項115記載のタンパク質。

[請求項117]

前記修飾可能な活性化ドメインがグランザイムB活性の基質を含む、請求項116記載のタンパク質。

[請求項118]

VCE細胞結合ドメインを含まない、請求項114記載のタンパク質。

[請求項119]

請求項109記載のタンパク質をコードする配列を含むベクター。

[請求項120]

請求項109記載のタンパク質をコードする配列を含む宿主細胞。

[請求項121]

請求項109記載のタンパク質を特異的に結合する抗体。

[請求項122]

融合タンパク質である、請求項109記載のタンパク質。

[請求項123]

非天然の細胞標的化部分を含む、請求項122記載の融合タンパク質。

[請求項124]

前記非天然の細胞標的化部分が抗体、またはその機能性断片である、請求項123記載の融合タンパク質。

[請求項125]

前記非天然の細胞標的化部分が人工的に多様化したポリペプチド結合因子である、請求項123記載の融合タンパク質。

[請求項126]

前記非天然の細胞標的化部分が受容体のリガンドである、請求項123記載の融合タンパク質。

[請求項127]

前記非天然の細胞標的化部分が、癌細胞上で発現される細胞表面標的を認識する、請求項123記載の融合タンパク質。

[請求項128]

前記非天然の細胞標的化部分が、造血細胞、リンパ球、および侵害受容ニューロンからなる群より選択される細胞を認識する、請求項123記載の融合タンパク質。

[請求項129]

修飾可能な活性化ドメインをさらに含む融合タンパク質であって、該修飾可能な活性化ドメインが外因性酵素の基質を含む、請求項122記載の融合タンパク質。

[請求項130]

前記酵素がプロテアーゼである、請求項129記載の融合タンパク質。

[請求項131]

前記プロテアーゼが外因性ヒトプロテアーゼである、請求項130記載の融合タンパク質。

[請求項132]

前記プロテアーゼが非ヒトプロテアーゼである、請求項130記載の融合タンパク質。

[請求項133]

前記プロテアーゼが非哺乳動物プロテアーゼである、請求項132記載の融合タンパク質。

[請求項134]

前記プロテアーゼがウイルスプロテアーゼである、請求項133記載の融合タンパク質。

[請求項135]

前記修飾可能な活性化ドメインがプロテアーゼ切断部位の翻訳後修飾を含む、請求項129記載の融合タンパク質。

[請求項136]

前記修飾可能な活性化ドメインが翻訳後修飾を除去可能な酵素の基質を含む、請求項129記載の融合タンパク質。

[請求項137]

前記修飾可能な活性化ドメインがグランザイムB活性の基質を含む、請求項129記載の融合タンパク質。

[請求項138]

標的細胞を破壊する方法であって、該標的細胞をVCEの断片を含むタンパク質と接触させる段階を含み、該断片はSEQ ID NO: 2と80%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、方法。

[請求項139]

前記断片がSEQ ID NO: 2と90%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項138記載の方法。

[請求項140]

前記断片がSEQ ID NO: 2と95%よりも高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項138記載の方法。

[請求項141]

前記断片がSEQ ID NO: 2と100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項138記載の方法。

[請求項142]

前記断片がADPリボシル化活性を含む、請求項138記載の方法。

[請求項143]

タンパク質が細胞膜トランスロケーション活性を含む、請求項142記載の方法。

[請求項144]

前記断片が前記細胞膜トランスロケーション活性を有するVCE細胞膜トランスロケーションドメインを含む、請求項143記載の方法。

[請求項145]

前記断片の天然のフリン切断部位が修飾可能な活性化ドメインで置き換えられており、該修飾可能な活性化ドメインが外因性酵素の基質を含む、請求項144記載の方法。

[請求項146]

前記修飾可能な活性化ドメインがグランザイムB活性の基質を含む、請求項145記載の方法。

。

[請求項147]

前記タンパク質がVCE細胞結合ドメインを含まない、請求項143記載の方法。

[請求項148]

前記タンパク質が融合タンパク質である、請求項138記載の方法。

[請求項149]

前記融合タンパク質が非天然の細胞標的化部分を含む、請求項148記載の方法。

[請求項150]

前記非天然の細胞標的化部分が抗体、またはその機能性断片である、請求項149記載の方法。

[請求項151]

前記非天然の細胞標的化部分が人工的に多様化したポリペプチド結合因子である、請求項149記載の方法。

[請求項152]

前記非天然の細胞標的化部分が受容体のリガンドである、請求項149記載の方法。

[請求項153]

前記非天然の細胞標的化部分が癌細胞上で発現される細胞表面標的を認識する、請求項149記載の方法。

[請求項154]

前記非天然の細胞標的化部分が造血細胞、リンパ球、および侵害受容ニューロンからなる群より選択される細胞を認識する、請求項149記載の方法。

[請求項155]

修飾可能な活性化ドメインをさらに含み、該修飾可能な活性化ドメインは外因性酵素の基質を含む、請求項148記載の方法。

[請求項156]

前記酵素がプロテアーゼである、請求項155記載の方法。

[請求項157]

前記プロテアーゼが外因性ヒトプロテアーゼである、請求項156記載の方法。

[請求項158]

前記プロテアーゼが非ヒトプロテアーゼである、請求項156記載の融合タンパク質。

[請求項159]

前記プロテアーゼが非哺乳動物プロテアーゼである、請求項158記載の方法。

[請求項160]

前記プロテアーゼがウイルスプロテアーゼである、請求項159記載の方法。

[請求項161]

前記修飾可能な活性化ドメインがプロテアーゼ切断部位の翻訳後修飾を含む、請求項155記載の方法。

[請求項162]

前記修飾可能な活性化ドメインが翻訳後修飾を除去可能な酵素の基質を含む、請求項155記載の方法。

[請求項163]

前記修飾可能な活性化ドメインがグランザイムB活性の基質を含む、請求項155記載の方法

。