

【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21年3月5日(2009.3.5)

【公表番号】特表2008-528033(P2008-528033A)

【公表日】平成20年7月31日(2008.7.31)

【年通号数】公開・登録公報2008-030

【出願番号】特願2007-553266(P2007-553266)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 N 5/10 (2006.01)

C 12 P 21/02 (2006.01)

C 07 K 14/47 (2006.01)

C 07 K 19/00 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 N 5/00 B

C 12 P 21/02 C

C 07 K 14/47

C 07 K 19/00

【手続補正書】

【提出日】平成21年1月19日(2009.1.19)

【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】

分泌リーダーおよび第2ポリペプチドを含む異種ポリペプチドであって、該分泌リーダーが、該第2ポリペプチドのN末端に作動可能に連結しており、ここで、該分泌リーダーは、天然において該第2ポリペプチドにそのように連結しておらず、そして分泌性タンパク質のリーダー配列を含み、該分泌性タンパク質はIX型コラーゲン1鎖である、異種ポリペプチド。

【請求項2】

前記分泌リーダーが、配列番号27のアミノ酸配列を含む、請求項1に記載の異種ポリペプチド。

【請求項3】

前記第2ポリペプチドが、第2分泌性ポリペプチド、膜貫通タンパク質の細胞外部分、および可溶性受容体から選択される、請求項1またはに記載の異種ポリペプチド。

【請求項4】

前記第2分泌性ポリペプチドが、増殖因子、サイトカイン、リンホカイン、インターフェロン、ホルモン、刺激因子、抑制因子、可溶性受容体、およびそのスプライスバリエントから選択される、請求項1、2、または3に記載の異種ポリペプチド。

【請求項5】

融合パートナーをさらに含む、請求項1、2、または3に記載の異種ポリペプチド。

【請求項6】

前記融合パートナーがポリマーである、請求項5に記載の異種ポリペプチド。

【請求項7】

前記ポリマーが第3分子であり、該第3分子がポリエチレングリコール、ヒト血清アルブミン、フェチュインA、フェチュインB、およびFcのすべてまたは部分から選択される、請求項6に記載の異種ポリペプチド。

【請求項8】

請求項1から7のいずれか一項に記載の異種ポリペプチドのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子であって、前記分泌リーダーは、第1ポリヌクレオチドによってコードされ、前記第2ポリペプチドは、第2ポリヌクレオチドによってコードされ、該第1ポリヌクレオチドおよび該第2ポリヌクレオチドが、細胞からの該異種ポリペプチドの分泌を容易にするように作動可能に連結しており、ここで、該第1ポリヌクレオチドおよび該第2ポリヌクレオチドが天然においてそのように連結していない核酸分子。

【請求項9】

IX型コラーゲン 1鎖のリーダー配列をコードする第1ポリヌクレオチドと、第2ポリペプチドをコードする第2ポリヌクレオチドとを含む、異種ポリペプチドをコードする核酸分子であって、該第1ポリヌクレオチドおよび該第2ポリヌクレオチドが、細胞からの該異種ポリペプチドの分泌を容易にするように作動可能に連結しており、ここで、該第1ポリヌクレオチドおよび該第2ポリヌクレオチドが天然においてそのように連結していない核酸分子。

【請求項10】

前記IX型コラーゲン 1鎖のリーダー配列が、配列番号27のアミノ酸配列を含む、請求項9に記載の核酸分子。

【請求項11】

前記第2ポリペプチドが分泌性ポリペプチド、膜貫通タンパク質の細胞外部分、および可溶性受容体から選択される、請求項9または10に記載の核酸分子。

【請求項12】

コザック配列またはその5'末端に位置するその断片である第3ポリヌクレオチドをさらに含む、請求項8または9に記載の核酸分子。

【請求項13】

制限酵素切断可能な配列をその3'末端に含む第4ポリヌクレオチドをさらに含む、請求項12に記載の核酸分子。

【請求項14】

タグをコードする第5ポリヌクレオチドをさらに含む、請求項13に記載の核酸分子。

【請求項15】

前記タグが精製タグである、請求項14に記載の核酸分子。

【請求項16】

前記タグがV5、HisX6(配列番号257)、HisX8(配列番号258)、アビジン分子、およびビオチン分子から選択される、請求項14に記載の核酸分子。

【請求項17】

第2酵素によって切断することができる酵素切断可能な第2配列をコードする第6ポリヌクレオチドをさらに含み、該切断可能な第2配列が、前記タグが前記異種のポリペプチドのC末端に位置している場合、該タグの上流に位置しており、または該タグが該異種ポリペプチドのN末端に位置している場合、該タグの下流に位置している、請求項13に記載の核酸分子。

【請求項18】

前記第2酵素がトロンビンまたはタバコウイルス由来のTEVである、請求項17に記載の核酸分子。

【請求項19】

複製起点および選択マーカーをさらに含む、請求項8から18のいずれか一項に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項20】

前記複製起点が SV40 ori、P01 ori、EBNA ori、および pMB1 oriから選択される、請求項19に記載のベクター。

【請求項 21】

前記選択マークーが抗生物質耐性遺伝子である、請求項19に記載のベクター。

【請求項 22】

前記抗生物質耐性がピューロマイシン耐性、カナマイシン耐性、およびアンピシリン耐性から選択される、請求項21に記載のベクター。

【請求項 23】

細胞、ならびに請求項 1 から7のいずれか一項に記載の異種ポリペプチド、請求項8から18のいずれか一項に記載の核酸分子、または請求項19から22のいずれか一項に記載のベクターを含む組換え宿主細胞。

【請求項 24】

真核細胞細胞である、請求項23に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 25】

哺乳動物細胞である、請求項24に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 26】

分泌ポリペプチドを産生する方法であつて、

(a) 請求項8から18のいずれか一項に記載の核酸分子を提供すること、および

(b) 該核酸分子を発現系において発現させること

を含む方法。

【請求項 27】

前記発現系が細胞発現系であり、前記細胞が哺乳動物細胞である、請求項26に記載の方法。

【請求項 28】

前記哺乳動物細胞が293細胞系である、請求項27に記載の方法。

【請求項 29】

前記哺乳動物細胞が P E R . C 6 (登録商標) 細胞系である、請求項27に記載の方法。

【請求項 30】

前記哺乳動物細胞が C H O 細胞系である、請求項27に記載の方法。

【請求項 31】

前記293細胞が293-T細胞である、請求項28に記載の方法。

【請求項 32】

前記293細胞が293-6E細胞である、請求項28に記載の方法。