

【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30年9月27日(2018.9.27)

【公表番号】特表2017-524366(P2017-524366A)

【公表日】平成29年8月31日(2017.8.31)

【年通号数】公開・登録公報2017-033

【出願番号】特願2017-507848(P2017-507848)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (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)

A 6 1 P 7/04 (2006.01)

A 6 1 K 38/36 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

A 6 1 P 7/04

A 6 1 K 38/36

【手続補正書】

【提出日】平成30年8月6日(2018.8.6)

【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】

ヒトフューリンをコードするヌクレオチド配列を含み、機能的フューリンを発現し、培養液上清に分泌するような形質転換細胞であって、

前記フューリンは、約 36 ～ 約 78 時間の培養後、前記培養液上清において約 50 U / mL ～ 約 300 U / mL の濃度で分泌される、形質転換細胞。

【請求項 2】

フューリンにより切断可能で、A r g - (L y s / A r g) - A r g モチーフを呈するタンパク質をコードするヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 1 に記載の形質転換細胞。

【請求項 3】

ヒトフューリンをコードする前記ヌクレオチド配列と、前記タンパク質をコードする前記ヌクレオチド配列とは、異なる発現ベクターにあるか、または同一の発現ベクターにある、請求項 2 に記載の形質転換細胞。

【請求項 4】

前記タンパク質は、ヴォン・ヴィレブランド因子、第 I I 因子、第 I X 因子、第 X 因子、プロテイン C、プロテイン S、またはプロテイン Z である、請求項 2 または 3 に記載の形質転換細胞。

【請求項 5】

前記タンパク質は、第 X 因子である、請求項 4 に記載の形質転換細胞。

【請求項 6】

前記機能的フューリンは、前記培養液上清において少なくとも約 50 ~ 約 60 U / mL の濃度で分泌される、請求項 5 に記載の形質転換細胞。

【請求項 7】

前記形質転換細胞により産生される少なくとも 90 % の前記第 X 因子が完全に処理される、請求項 6 に記載の形質転換細胞。

【請求項 8】

前記機能的フューリンは、前記培養液上清において少なくとも約 90 ~ 約 100 U / mL の濃度で分泌される、請求項 5 に記載の形質転換細胞。

【請求項 9】

前記形質転換細胞により産生される少なくとも 95 % の前記第 X 因子が完全に処理される、請求項 8 に記載の形質転換細胞。

【請求項 10】

形質転換細胞を産生する方法であって、

哺乳動物タンパク質の発現に適した細胞株に、前記細胞株によるヒトフューリンの発現に適応する第 1 の発現ベクター、および前記細胞株によるタンパク質の発現に適応し、Arg - (Lys / Arg) - Arg モチーフを呈するタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む第 2 のベクターをトランスフェクトすることと、

前記第 1 および第 2 の発現ベクターをトランスフェクトされ、約 36 ~ 約 78 時間の培養後、培養液上清において約 50 U / mL ~ 約 300 U / mL の濃度で機能的ヒトフューリンを発現し、分泌する細胞を選択することと、

を含む、方法。

【請求項 11】

前記選択することが、前記第 1 および第 2 の発現ベクターをトランスフェクトされ、約 42 ~ 約 72 時間の培養後、培養液上清において約 300 U / mL の濃度で機能的ヒトフューリンを発現し、分泌する細胞を選択することによって実施される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記タンパク質は、フォン・ヴィレブランド因子、第 II 因子、第 IX 因子、第 X 因子、プロテイン C、プロテイン S、またはプロテイン Z である、請求項 10、または 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記タンパク質は、第 X 因子である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記細胞株は、前記第 1 の発現ベクターおよび前記第 2 の発現ベクターをほぼ同時にトランスフェクトされる、請求項 11 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞株は、前記第 1 の発現ベクターをトランスフェクトされ、前記第 2 の発現ベクターを前記細胞株にトランスフェクトする前に、フューリンを安定したレベルで分泌する細胞が得られるか、またはその逆の順番である、請求項 11 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の前記形質転換細胞により産生される、完全に処理された組換え第 X 因子。

【請求項 17】

成熟型で完全に処理された F X を産生する方法であって、

請求項 2 に記載される形質転換細胞を培養して、成熟型で完全に処理された F X を産生することと、

培養上清から F X を単離することと、
を含む、方法。

【請求項 18】

請求項 1 に記載の形質転換細胞を産生する方法であって、
哺乳動物タンパク質の発現に適した細胞株に、ヒトフューリンポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、発現ベクターをトランスフェクトすることと、
約 36 ～ 約 78 時間の培養後、培養液上清において約 50 U / mL ～ 約 300 U / mL の濃度で機能的ヒトフューリンを発現し、分泌する形質転換細胞、好ましくは、約 42 ～ 約 72 時間の培養後、培養液上清において約 300 U / mL の濃度で機能的ヒトフューリンを発現し、分泌する形質転換細胞を選択することと、
を含む、方法。