

【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25年9月12日 (2013.9.12)

【公表番号】特表2013-500726(P2013-500726A)

【公表日】平成25年1月10日 (2013.1.10)

【年通号数】公開・登録公報2013-002

【出願番号】特願2012-523129(P2012-523129)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/745 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/43 (2006.01)

A 6 1 P 7/04 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 14/745 Z N A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 5/00 1 0 1

C 0 7 K 19/00

A 6 1 K 37/465

A 6 1 P 7/04

【手続補正書】

【提出日】平成25年7月30日 (2013.7.30)

【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】

1 以上のアミノ酸置換を導入することによって改変されたアミノ酸配列を含む第IX因子ポリペプチド。

【請求項 2】

残基 86 におけるアミノ酸置換を含むものである、請求項 1 のポリペプチド。

【請求項 3】

アミノ酸残基 85、86 および 87 から選択される 1 以上のアミノ酸置換を含むものである、請求項 1 のポリペプチド。

【請求項 4】

アミノ酸残基 85、86、87、338 および 410 から選択される 1 以上のアミノ酸置換を含むものである、請求項 1 のポリペプチド。

【請求項 5】

1 以上のアミノ酸置換が、D85F; D85G; D85H; D85I; D85M; D85N; D85R; D85S; D85W; D85Y; V86A; V86D; V86E; V86G; V86H; V86I; V86L; V86M; V86N; V86P; V86Q; V86R; V86S; V86T; T87F; T87I; T87K; T87M; T87R; T87V; T87W; R338A; R338F; R338I; R338L;

R338M; R338S; R338T; R338V; R338W; E410N; E410Q; D85W および T87R; D85F および T87I; D85W および T87W; D85R および T85R; D85I および T87R; D85Y および T87F; D85I および T87M; D85F および T87R; D85F および T87V; D85R および T87K; D85H および T87I; D85I および T87I; D85Y および T87K; D85S および T87R; D85Y および T87R; D85G および T87K; D85H および T87W; D85H および T87K; D85F および T87K; D85H および T87V; D85M および T87I; D85H および T87M; R338A および E410N; R338A および E410Q; D85W、V86A、および T87R; D85F、V86A、および T87I; D85W、V86A、および T87W; D85R、V86A、および T85R; D85I、V86A、および T87R; D85Y、V86A、および T87F; D85I、V86A、および T87M; D85F、V86A、および T87R; D85F、V86A、および T87V; D85R、V86A、および T87K; D85H、V86A、および T87I; D85I、V86A、および T87I; D85Y、V86A、および T87K; D85S、V86A、および T87R; D85Y、V86A、および T87R; D85G、V86A、および T87K; D85H、V86A、および T87W; D85H、V86A、および T87K; D85F、V86A、および T87K; D85H、V86A、および T87V; D85M、V86A、および T87I; D85H、V86A、および T87M; D85W、V86A、T87R、および R338A; D85F、V86A、T87I、および R338A; D85W、V86A、T87W、および R338A; D85R、V86A、T85R、および R338A; D85I、V86A、T87R、および R338A; D85Y、V86A、T87F、および R338A; D85I、V86A、T87M、および R338A; D85F、V86A、T87R、および R338A; D85F、V86A、T87V、および R338A; D85R、V86A、T87K、および R338A; D85H、V86A、T87I、および R338A; D85I、V86A、T87I、および R338A; D85Y、V86A、T87K、および R338A; D85S、V86A、T87R、および R338A; D85Y、V86A、T87R、および R338A; D85G、V86A、T87K、および R338A; D85H、V86A、T87W、および R338A; D85H、V86A、T87K、および R338A; D85F、V86A、T87K、および R338A; D85H、V86A、T87V、および R338A; D85M、V86A、T87I、および R338A; D85H、V86A、T87M、および R338A; D85W、V86A、T87R、R338A、および E410N; D85F、V86A、T87I、R338A、および E410N; D85W、V86A、T87W、R338A、および E410N; D85R、V86A、T85R、R338A、および E410N; D85I、V86A、T87R、R338A、および E410N; D85Y、V86A、T87F、R338A、および E410N; D85I、V86A、T87M、R338A、および E410N; D85F、V86A、T87R、R338A、および E410N; D85F、V86A、T87V、R338A、および E410N; D85R、V86A、T87K、R338A、および E410N; D85H、V86A、T87I、R338A、および E410N; D85I、V86A、T87I、R338A、および E410N; D85Y、V86A、T87K、R338A、および E410N; D85S、V86A、T87R、R338A、および E410N; D85Y、V86A、T87R、R338A、および E410N; D85G、V86A、T87K、R338A、および E410N; D85H、V86A、T87W、R338A、および E410N; D85H、V86A、T87K、R338A、および E410N; D85F、V86A、T87K、R338A、および E410N; D85H、V86A、T87V、R338A、および E410N; D85M、V86A、T87I、R338A、および E410N; D85H、V86A、T87M、R338A、および E410N; D85W、V86A、T87R、R338A、および E410Q; D85F、V86A、T87I、R338A、および E410Q; D85W、V86A、T87W、R338A、および E410Q; D85R、V86A、T85R、R338A、および E410Q; D85I、V86A、T87R、R338A、および E410Q; D85Y、V86A、T87F、R338A、および E410Q; D85I、V86A、T87M、R338A、および E410Q; D85F、V86A、T87R、R338A、および E410Q; D85F、V86A、T87V、R338A、および E410Q; D85R、V86A、T87K、R338A、および E410Q; D85H、V86A、T87I、R338A、および E410Q; D85I、V86A、T87I、R338A、および E410Q; D85Y、V86A、T87K、R338A、および E410Q; D85S、V86A、T87R、R338A、および E410Q; D85Y、V86A、T87R、R338A、および E410Q; D85G、V86A、T87K、R338A、および E410Q; D85H、V86A、T87W、R338A、および E410Q; D85H、V86A、T87K、R338A、および E410Q; D85F、V86A、T87K、R338A、および E410Q; D85H、V86A、T87V、R338A、および E410Q; D85M、V86A、T87I、R338A、および E410Q; D85H、V86A、T87M、R338A、および E410Q; ならびにこれらのいずれかの組合せから選択されるものである、請求項 4 のポリペプチド。

【請求項 6】

以下のアミノ酸配列を含む第 IX 因子ポリペプチド：

YNSGKLEEFVQGNLERECMECKSFEEAREVFENTERTTEFWKQYVDGDQCESNPCLNGGCKDDINSYECWCPFGFEGK
NCELX₈₅X₈₆X₈₇CNINKGRCEQFCKNSADNKVVCSCTEGYRLAENQKSCEPAVPFPCGRVSVSQTSKLTRAETVFPD

YVNSTEAETILDNITQSTQSFNDFTRVVGEDAKPGQFPWQVVLNGKVDACGGSIVNEKWI VTAACHCVETGVKITVVAG
 EHNIEETEHETEQKRNVIRIIPHNNYNAAINKYNHDIALLELDEPLVLNSYVTPIC IADKEYTNI FLKFGSGYVSGWGRVF
 HKGRSALVLQYLRVPLVDRATCLX₃₃₈STKFTIYNNMFCAGFHEGGRDSCQGDSSGGPHVTEVEGTSFLTGIISWGEECAM
 KGKYGIYTKVSRVYVNWIKX₄₁₀ KTKLT (配列番号 2);

ここで、X₈₅ は D、F、G、H、I、M、N、R、S、W および Y から選択され;

ここで、X₈₆ は A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T および V から選択され;

ここで、X₈₇ は F、I、K、M、R、T、V および W から選択され;

ここで、X₃₃₈ は A、F、I、L、M、R、S、T、V および W から選択され;

ここで、X₄₁₀ は E、N、および Q から選択される。

【請求項 7】

1 以上のグリコシル化部位をさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の第 IX 因子ポリペプチドおよび医薬上許容される担体を含む医薬品。

【請求項 9】

血友病 B の処置のための、請求項 8 に記載の医薬品。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載のポリペプチドをコードする DNA 配列。

【請求項 11】

宿主細胞が第 IX 因子ポリペプチドを発現することを可能にするよう、請求項 10 に記載の DNA 配列を用いてトランスフェクトされた真核宿主細胞。

【請求項 12】

第 IX 因子ポリペプチドを生産する方法であって、(i) 1 以上のアミノ酸置換を導入することによって該ポリペプチドのアミノ酸配列を改変する工程; (ii) 細胞株において該ポリペプチドを発現させる工程; および (iii) 該ポリペプチドを精製する工程を含む、方法。

【請求項 13】

該 1 以上のグリコシル化部位に結合した 1 以上の糖部分をさらに含む、請求項 7 のポリペプチド。

【請求項 14】

1 以上の糖部分がシアル酸である、請求項 13 のポリペプチド。

【請求項 15】

a) 請求項 13 または 14 のポリペプチドおよび b) 該ポリペプチドに共有結合した 1 以上のポリマー部分を含む複合体。

【請求項 16】

1 以上のポリマー部分が 1 以上の糖部分に共有結合している、請求項 15 の複合体。

【請求項 17】

1 以上のポリマー部分が、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(プロピレングリコール)(PPG)、エチレングリコールとプロピレングリコールのコポリマー、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ(サッカライド)、ポリ(アルファ-ヒドロキシ酸)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン、ポリ(N-アクリロイルモルフォリン)、ポリシアル酸、ヒドロキシエチルスターチ(HES)、ポリエチレンオキシド、アルキル-ポリエチレンオキシド、ビスポリエチレンオキシド、および、ポリアルキレンオキシド、ポリ(エチレングリコール-コ-プロピレングリコール)、ポリ(N-2-(ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド)のコポリマーまたはブロックコポリマー、ならびにデキストランからなる群より選択される、請求項 16 の複合体。

【請求項 18】

1 以上のポリマー部分がポリ(アルキレングリコール)である、請求項 17 の複合体。

【請求項 19】

ポリ(アルキレングリコール)がポリエチレングリコール(PEG)である、請求項 18 の複合体。

【請求項 20】

以下を含む複合体：

- a) 1 以上のアミノ酸置換を導入することによって改変されたアミノ酸配列を含む第IX因子ポリペプチド、ここで、少なくとも1つのアミノ酸置換が残基 338 におけるものである；
- b) 1 以上のグリコシル化部位と結合した1以上の糖部分；および
- c) 1 以上の糖部分と共有結合した1以上のポリマー部分。

【請求項 21】

該残基 338 における置換が、R338A、R338F、R338I、R338L、R338M、R338S、R338T、R338V および R338W からなる群より選択されるものである、請求項 20 の複合体。

【請求項 22】

該ポリペプチドが、アミノ酸残基 157 および 167 から選択される1以上のアミノ酸置換をさらに含む、請求項 20 または 21 の複合体。

【請求項 23】

該残基 157 における置換が、N157A および N157Q からなる群より選択されるものである、請求項 22 の複合体。

【請求項 24】

該残基 167 における置換が、N167A および N167Q からなる群より選択されるものである、請求項 22 の複合体。

【請求項 25】

以下の工程を含む、ポリペプチドへのポリマー部分の複合化を改善する方法： a) 1 以上のグリコシル化部位を有するポリペプチドを提供する工程、ここで、該グリコシル化部位は1以上のシアル酸を含む； b) 該ポリペプチドの該シアル酸を酸化する工程； c) 触媒を提供する工程； および d) アミノオキシ官能基を含むポリマー部分を該酸化されたシアル酸と共有結合させる工程； これにより複合化の割合が増大する。

【請求項 26】

該触媒が、アニリンならびにアニリン誘導体からなる群より選択されるものである、請求項 25 の方法。

【請求項 27】

該複合化の割合が、触媒を用いない場合と比較して増大する、請求項 25 の方法。