

【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18年3月2日(2006.3.2)

【公表番号】特表2002-507115(P2002-507115A)

【公表日】平成14年3月5日(2002.3.5)

【出願番号】特願平10-548252

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 07 K 14/805 (2006.01)

C 12 P 21/02 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 07 K 14/805

C 12 P 21/02 C

【手続補正書】

【提出日】平成17年9月27日(2005.9.27)

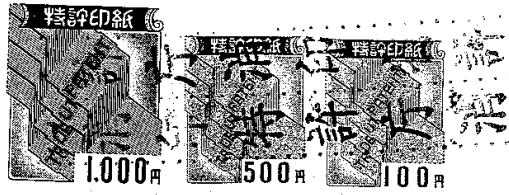
【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】補正の内容のとおり

【補正方法】変更

【補正の内容】



(1,600円)



手続補正書



平成17年9月27日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

平成10年特許願第548252号

2. 補正をする者

住所 アメリカ合衆国 コロラド 80301, ボルダー, セントラル
アベニュー 2545, スイート エフディー-1

名称 ソマトゲン, インコーポレイテッド

住所 アメリカ合衆国 テキサス 77005, ヒューストン, サウス
メイン 6100, インスティチュート オブ バイオサイエンス
アンド バイオエンジニアリング

名称 ウィリアム マーシュ ライス ユニバーシティ

3. 代理人

住所 〒540-6015 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号
クリスタルタワー15階

氏名 (7828) 弁理士 山本 秀策

電話 (大阪) 06-6949-3910



4. 補正により増加する請求項の数: 1

5. 補正対象書類名

請求の範囲

6. 補正対象項目名

請求の範囲

7. 補正の内容

請求の範囲を別紙の通り補正する。

方 式 番



請求の範囲

1. 組換え改変ヘモグロビンの高可溶性発現の方法であって、以下の工程：

(a) 会合して機能的に改変されたヘモグロビンを形成し得るグロビンをコードするヌクレオチド配列を含む宿主細胞を提供する工程であって、ここで、βグロビンをコードするヌクレオチド配列は、少なくとも1つの高可溶性発現変異、または以下の群より選択される変異の組み合わせを有する、工程：

D73I；

D73M；

D73E；

D73T；

D73K；

D73L；

K82E；

K82G；

K82P；

K82Q；

K82S；

K82N；

K82H；

N102A；

N102V；

K82D (Providence) + D73G (Tilberg) ；

K82D (Providence) + D73Y (Vancouver) ；

V67W+D73E；

V67W+D73I；

V67W+D73Y (Vancouver) ；

V67W+D73E+K82D (Providence) ；

V67W+D73I+K82D (Providence) ；

V67W+D73Y (Vancouver) +K82D (Providence) ;

V67W+K82E ; および

V67W+K82G ;

(b) 可溶性の組換え改変ヘモグロビンを発現するように宿主細胞を誘導する工程；ならびに

(c) 宿主細胞から可溶性の組換え改変ヘモグロビンを精製する工程、を包含する、方法。

2. 以下からなる群より選択される β グロビン中の変異を含む、組換え改変ヘモグロビン：D73I、D73M、D73E、D73T、D73K、D73L、K82E、K82G、K82P、K82Q、K82S、K82N、K82H、N102A、およびN102V。

3. 以下からなる群より選択される高可溶性発現変異を含む β グロビンをコードする、組換えDNA分子：D73I、D73M、D73E、D73T、D73K、D73L、K82E、K82G、K82P、K82Q、K82S、K82N、K82H、N102A、およびN102V。

4. 以下からなる群より選択される変異の組み合わせを含む、組換え高可溶性発現変異ヘモグロビン：

β V67W+D73E ;

β V67W+D73I ;

β V67W+D73Y (Vancouver) ;

β V67W+D73E+K82D (Providence) ;

β V67W+D73I+K82D (Providence) ;

β V67W+D73Y (Vancouver) +K82D (Providence) ;

β V67W+K82E ;

β V67W+K82G ;

β V67F+K82D (Providence) +N108K (Presbyterian) ;

β L29F,H58Q/ β L106W+K82D (Providence) +N102Y (St. Mande) ;

β L29F,H58Q/ β L106W+K82D (Providence) +N108K (Presbyterian) ;

ジ-ジ α L29F, H58Q/ β L106W+K82D (Providence) + N102Y (St. Mande) ;
 ジ-ジ α L29F, H58Q/ β L106W+K82D (Providence) + N108K (Presbyterian) ;
 ジ α L29F, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) ;
 ジ α L29W, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) ;
 ジ α L29W, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) + N108K (Presbyterian) ;
 ジ-ジ α L29W, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) ; および
 ジ-ジ α L29W, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) + N108K (Presbyterian) 。

5. 会合して機能的に改変されたヘモグロビンを形成し得るグロビンをコードする、組換えDNA分子であって、ここで、該DNA分子は、以下からなる群より選択される変異の組み合わせを有する α および β グロビンをコードする、分子：

β V67W+D73E ;
 β V67W+D73I ;
 β V67W+D73Y (Vancouver) ;
 β V67W+D73E+K82D (Providence) ;
 β V67W+D73I+K82D (Providence) ;
 β V67W+D73Y (Vancouver) + K82D (Providence) ;
 β V67W+K82E ;
 β V67W+K82G ;
 β V67F+K82D (Providence) + N108K (Presbyterian) ;
 ジ α L29F, H58Q/ β L106W+K82D (Providence) + N102Y (St. Mande) ;
 ジ α L29F, H58Q/ β L106W+K82D (Providence) + N108K (Presbyterian) ;
 ジ-ジ α L29F, H58Q/ β L106W+K82D (Providence) + N102Y (St. Mande) ;
 ジ-ジ α L29F, H58Q/ β L106W+K82D (Providence) + N108K (Presbyterian) ;
 ジ α L29F, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) ;
 ジ α L29W, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) ;
 ジ α L29W, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) + N108K (Presbyterian) ;
 ジ-ジ α L29W, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) ; および

ジ-ジ α L29W, H58Q/ β V67W+K82D (Providence) +N108K (Presbyterian)。

6. 低下した一酸化窒素との反応速度を有し、以下からなる群より選択される α グロビン中の変異または変異の組み合わせを含む、組換えヘモグロビン変異体：

E11 (Val→Leu) およびE7 (His→Gln) ;

E11 (Val→Trp) およびE7 (His→Gln) ;

E11 (Val→PheまたはTrpまたはLeu) およびE7 (His→Gln) およびG8 (Leu →PheまたはTrp) ;

B10 (Leu→Phe) およびE4 (Val→Leu) ;

B10 (Leu→Trp) およびE4 (Val→Leu) ;

B10 (Leu→Trp) およびE7 (His→Gln) ;

B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Phe) ;

B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Trp) ;

B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Trp) ;

B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Phe) ;

B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Trp) ;

B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Ile) ;

B10 (Leu→Trp) およびE7 (His→Gln) およびE11 (Val→Leu) およびG8 (Leu →Trp) ;

B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Trp) およびG8 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Phe) ;

E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Trp) ;

B13 (Met→PheまたはTrp) ;

G12 (Leu→PheまたはTrp) ; ならびに

B14 (Phe→Trp) 。

7. 一酸化窒素との低下した反応速度を有し、以下からなる群より選択される β グロビン中の変異または変異の組み合わせを含む、組換えヘモグロビン変異

体：

B13 (Leu→PheまたはTrp) ;

G12 (Leu→PheまたはTrp) ;

B10 (Leu→Phe) およびE4 (Val→Leu) ;

B10 (Leu→Trp) およびE4 (Val→Leu) ;

B14 (Leu→PheまたはTrp) ;

G8 (Leu→Phe) およびG12 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Trp) およびG8 (Leu→Met) ;

E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Phe) ;

E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Met) ;

E11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Ile) ;

E11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Phe) ;

E11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Met) ;

E11 (Val→Met) およびG8 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Met) およびG8 (Leu→Trp) およびE7 (His→Gln) ;

E11 (Val→Trp) およびG8 (Leu→Ile) ;

E7 (His→Gln) およびE11 (Val→Trp) ;

E7 (His→Gln) およびE11 (Val→Leu) ;

E7 (His→Gln) およびE11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→PheまたはTrp) ;

E7 (His→Gln) およびE11 (Val→Leu、Met、またはTrp) およびG8 (Leu→PheまたはTrp) ;

E11 (Val→TrpまたはPhe) およびG12 (Leu→TrpまたはMet) ;

E11 (Val→TrpまたはPhe) およびB13 (Leu→TrpまたはMet) ;

B10 (Leu→Trp) およびB13 (Leu→TrpまたはMet) ;

B10 (Leu→Phe) およびB13 (Leu→Trp) ;

B10 (Leu→TrpまたはPhe) およびG12 (Leu→Trp) ;

B10 (Leu→Phe) およびG12 (Leu→Met) ;

G8 (Leu→Trp) およびG12 (Leu→TrpまたはMet) ;
 G8 (Leu→Phe) およびG12 (Leu→TrpまたはMet) ;ならびに
G8 (Leu→Trp) およびB13 (Leu→TrpまたはMet) 。

8. 以下からなる群より選択される変異の組み合わせを含む、組換えヘモグロビン変異体：

α B10 (Leu→Trp) , α E7 (His→Gln) および β E11 (Val→Trp) ;ならびに
 α B10 (Leu→Phe) , α E7 (His→Gln) および β G8 (Leu→Trp) 。

9. 以下からなる群より選択される変異または変異の組み合わせを含む α グロビンをコードする、組換えDNA分子：

E11 (Val→Leu) およびE7 (His→Gln) ;
 E11 (Val→Trp) およびE7 (His→Gln) ;
 E11 (Val→PheまたはTrpまたはLeu) およびE7 (His→Gln) およびG8 (Leu→PheまたはTrp) ;
 B10 (Leu→Phe) およびE4 (Val→Leu) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE4 (Val→Leu) ;
B10 (Leu→Trp) およびE7 (His→Gln) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Phe) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Trp) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Trp) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Phe) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Trp) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Ile) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE7 (His→Gln) およびE11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Trp) ;
 B10 (Leu→Trp) およびE11 (Val→Trp) およびG8 (Leu→Trp) ;
 E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Phe) ;
 E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Trp) ;

B13 (Met→PheまたはTrp) ;

G12 (Leu→PheまたはTrp) ;ならびに

B14 (Phe→Trp) 。

10. 以下からなる群より選択される変異または変異の組み合わせを含む β グロービンをコードする、組換えDNA分子：

B13 (Leu→PheまたはTrp) ;

G12 (Leu→PheまたはTrp) ;

B10 (Leu→Phe) およびE4 (Val→Leu) ;

B10 (Leu→Trp) およびE4 (Val→Leu) ;

B14 (Leu→PheまたはTrp) ;

G8 (Leu→Phe) およびG12 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Trp) およびG8 (Leu→Met) ;

E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Phe) ;

E11 (Val→Leu) およびG8 (Leu→Met) ;

E11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Ile) ;

E11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Phe) ;

E11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→Met) ;

E11 (Val→Met) およびG8 (Leu→Trp) ;

E11 (Val→Met) およびG8 (Leu→Trp) およびE7 (His→Gln) ;

E11 (Val→Trp) およびG8 (Leu→Ile) ;

E7 (His→Gln) およびE11 (Val→Trp) ;

E7 (His→Gln) およびE11 (Val→Leu) ;

E7 (His→Gln) およびE11 (Val→Phe) およびG8 (Leu→PheまたはTrp) ;

E7 (His→Gln) およびE11 (Val→Leu、Met、またはTrp) およびG8 (Leu→PheまたはTrp) ;

E11 (Val→TrpまたはPhe) およびG12 (Leu→TrpまたはMet) ;

E11 (Val→TrpまたはPhe) およびB13 (Leu→TrpまたはMet) ;
B10 (Leu→Trp) およびB13 (Leu→TrpまたはMet) ;
B10 (Leu→Phe) およびB13 (Leu→Trp) ;
B10 (Leu→TrpまたはPhe) およびG12 (Leu→Trp) ;
B10 (Leu→Phe) およびG12 (Leu→Met) ;
G8 (Leu→Trp) およびG12 (Leu→TrpまたはMet) ;
G8 (Leu→Phe) およびG12 (Leu→TrpまたはMet) ; ならびに
G8 (Leu→Trp) およびB13 (Leu→TrpまたはMet) 。

1.1. 可溶性組換えヘモグロビンの高発現を得る方法であつて、以下の工程：

- (a) 組換えヘモグロビンを発現し得る宿主細胞の培養物に過剰なヘミンを添加する工程；および
- (b) 宿主細胞を誘導して、可溶性組換えヘモグロビンを発現させる工程；
および
- (c) 可溶性組換えヘモグロビンを精製する工程、
を包含する、方法。