

【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 3 部門第 2 区分

【発行日】平成20年2月21日 (2008.2.21)

【公表番号】特表2008-500275(P2008-500275A)

【公表日】平成20年1月10日 (2008.1.10)

【年通号数】公開・登録公報2008-001

【出願番号】特願2006-547297(P2006-547297)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/505 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/22 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 47/12 (2006.01)

A 6 1 K 47/14 (2006.01)

A 6 1 K 47/24 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 K 47/32 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 14/505 Z N A

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 P 21/02 C

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 37/24

A 6 1 P 7/06

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 47/12

A 6 1 K 47/14

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/32

【手続補正書】

【提出日】平成19年12月18日 (2007.12.18)

【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】

治療用タンパク質の N 末端のシステインに結合したポリマーを有する治療用タンパク質
コンジュゲートを製造する方法であって、ここで、該システイン残基のチオールが：

- a) 該治療用タンパク質の核酸配列を得ること、
- b) 細胞における該タンパク質の発現のためのシグナル配列を選択することおよび該シ
グナル配列のための核酸配列を得ること、
- c) (a) のタンパク質配列に (b) のシグナル配列を該シグナル配列がコドン T G T

の上流であるようにそれらの間にコドン T G T を介挿して設計することにより構築物の形成を導くこと、

d) 該構築物が細胞において発現されるようにすること、

e) 該構築物によりコードされるポリペプチドを回収すること、ならびに

f) 該ポリペプチドを N 末端のシステインでポリマーに結合すること

を含んでなる該コンジュゲートの共有結合の形成に關与する方法。

【請求項 2】

導く段階がオリゴヌクレオチド特異的 (o l i g o n u c l e o t i d e - d i r e c t e d) 突然変異誘発である請求項 1 の方法。

【請求項 3】

可能なシグナル配列がヒト成長ホルモンリーダー (配列番号 : 2)、抗体重鎖リーダー配列 (配列番号 : 3)、抗体軽鎖リーダー配列 (配列番号 : 4)、ヒトインターフェロンデルタ 1 リーダー配列 (配列番号 : 1 2) およびヒトインターフェロンオメガ 1 配列 (配列番号 : 1 3) よりなる群から選択される請求項 1 の方法。

【請求項 4】

式

(M)_n - X - A - c y s - E P O (I)

[式中、E P O はエリスロポエチンもしくは野生型ヒト E P O と異なる少なくとも 1 個のアミノ酸を有するエリスロポエチンバリエーション、または骨髓細胞に赤血球の産生を増加させる生物学的特性を有するその任意の製薬学的に許容しうる誘導体から選択されるエリスロポエチン部分であり；c y s はアミノ酸システインを表し且つエリスロポエチン部分のアミノ酸配列に対して位置 - 1 に存在し；A はチオール反応性部分の残基であり；X は親水性ポリマーであり且つ任意であり；M は該部分の循環半減期を増加することができる有機分子であり；そして n は 0 ~ 1 5 の整数である]

の部分を含んでなる、骨髓細胞に赤血球の生成を増加させる生物学的特性を有するエリスロポエチン (e r y t h r o p o i e t i c) コンジュゲート。

【請求項 5】

部分 M が脂肪酸基、脂肪酸エステル基、脂質もしくはリン脂質から各々独立して選択される 1 ~ 約 6 個の有機部分を含んでなる請求項 4 のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 6】

親水性ポリマーがポリアルキレンオキシドである請求項 4 のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 7】

ポリアルキレンオキシドが置換されたポリエチレンオキシドである請求項 6 のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 8】

ポリアルキレンオキシドがポリエチレングリコールホモポリマー、ポリプロピレングリコールホモポリマー、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のコポリマーもしくはブロックコポリマーから選択される請求項 6 のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 9】

該ポリアルキレンオキシドが約 2 0 0 ~ 約 1 0 0 , 0 0 0 の間の分子量を有するポリエチレングリコールホモポリマーである請求項 6 のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 1 0】

該親水性ポリマーが線状もしくは分岐状ポリアルカングリコール鎖、炭水化物鎖、アミノ酸鎖またはポリビニルピロリドン鎖であり、そして該親水性ポリマーが約 8 0 0 ~ 約 1 2 0 , 0 0 0 ダルトンの分子量を有する請求項 4 のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 1 1】

該親水性ポリマーが 2 , 0 0 0 ダルトンより大きい分子量を有する線状もしくは分岐状ポリアルカングリコール鎖である請求項 1 0 のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 12】

該親水性ポリマーが線状もしくは分岐状ポリエチレングリコール鎖または線状もしくは分岐状の置換されたポリエチレングリコール鎖であり、そして有機部分Mがアルキル基、 $C_6 \sim C_{40}$ 脂肪酸基、 $C_6 \sim C_{40}$ 脂肪酸エステル基、脂質基およびリン脂質基から選択される請求項4のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 13】

該有機部分がパルミトイルである請求項5のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 14】

有機部分がジステロイルホスファチジルエタノールアミン (D S P E) である請求項5のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 15】

A がエチルであり、X が P E G もしくは他のポリマーであり且つ任意であり、そしてM がビオチン、ダンシル、または研究、診断もしくは治療目的のために有用である生物物理学的特性を E P O に与える他の部分である請求項4のコンジュゲート。

【請求項 16】

A がエチルである請求項4のコンジュゲート。

【請求項 17】

E P O が a) 位置 28 から少なくとも位置 165 の配列番号 : 1、b) 配列番号 : 1 と異なる少なくとも 1 個のアミノ酸を有するエリスロポエチンバリエーション、または c) (a) もしくは (b) の任意の製薬学的に許容しうる誘導体よりなる群から選択されるエリスロポエチン部分であり ; そして c y s がアミノ酸システインを表し且つ配列番号 : 1 もしくはバリエーションのアミノ酸番号 28 に対して N 末端の位置に存在し ; A がチオール反応性部分の残基を示し ; X が親水性ポリマーであり ; そして M がアルキル基、 $C_6 \sim C_{40}$ 脂肪酸基、 $C_6 \sim C_{40}$ 脂肪酸エステル基、脂質基もしくはリン脂質基であり ; そして n が 0 ~ 15 の整数である請求項4のエリスロポエチンコンジュゲート。

【請求項 18】

該コンジュゲートが非結合エリスロポエチンと比較して増加した血清半減期を特徴とする請求項16の方法。

【請求項 19】

遊離アルファアミンを有するシステイン残基が、反応性遊離チオールを提供するために組み換え、酵素的もしくは化学的手段により付加されており、そして該反応性遊離チオールがタンパク質フォールディング、分泌もしくは生物活性を妨げず、そして該チオールが誘導体化されることができそれにより該エリスロポエチンタンパク質の循環半減期を増加させるかもしくはそうでなければ生物活性を改善する組み換えもしくは非組み換え哺乳類エリスロポエチンを含有するエリスロポエチンタンパク質もしくはタンパク質コンジュゲート。

【請求項 20】

式 : Z - c y s - E P O [式中、E P O はエリスロポエチンもしくは野生型ヒト E P O と異なる少なくとも 1 個のアミノ酸を有するエリスロポエチンバリエーション、または骨髓細胞に赤血球の産生を増加させる生物学的特性を有するその任意の製薬学的に許容しうる誘導体から選択されるエリスロポエチン部分であり、c y s はアミノ酸システインを表し且つエリスロポエチン部分のアミノ酸配列に対して位置 - 1 に存在し ; そして Z は異種シグナル配列である] の部分。

【請求項 21】

異種シグナル配列がヒト成長ホルモンリーダー配列 (配列番号 2) である請求項20の部分。