



(12) PATENTANSØGNING

Patent- og
Varemærkestyrelsen

(51) Int.Cl⁷: C 12 N 15/00

(21) Patentansøgning nr: PA 2003 01684

(22) Indleveringsdag: 2003-11-12

(24) Løbedag: 1986-08-22

(41) Alm. tilgængelig: 2003-11-12

(83) Deponering af mikroorganismer.

(30) Prioritet: 1985-08-23 US 768,959 1986-03-03 US 835,548

(71) Ansøger: Kirin-Amgen Inc., 1900 Oak Terrace Lane, Thousand Oaks, California 91320, USA

(72) Opfinder: Lawrence M. Souza, 1302 Witherspoon, Thousand Oaks, California 91360, USA

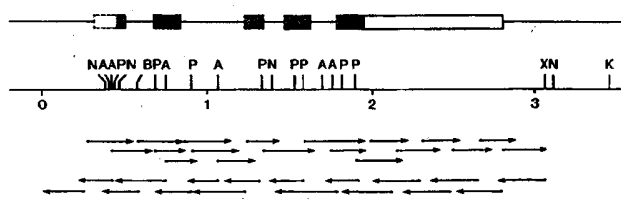
(74) Fuldmægtig: Internationalt Patent-Bureau A/S, Høje Taastrup Boulevard 23, 2630 Taastrup, Danmark

(54) Benævnelse: DNA-sekvens kodende for en polypeptidanalogue af hpG-CSF, i hvilken en eller flere cysteinrester er slettet eller erstattet med alanin- eller serinrester, plasmider indeholdende sekvensen, hermed transformerede/transficerede værtsceller, fremgangsmåde til fremstilling af polypeptidanalogen, en således fremstillet ikke naturligt forekommende polypeptidanalogue, farmaceutisk præparat med indhold deraf og anvendelse af polypeptidanalogen til fremstilling af et lægemiddel

(57) Sammendrag:

DNA-sekvens kodende for en analog til human pluripotent granulocyt kolonistimulerende faktor ("hpG-CSF"), i hvilken en eller flere cysteinrester er slettet eller er erstattet med alanin- eller serinrester. Denne sekvens kan inkorporeres i autonomt replikerende plasmider eller virale vektorer til transformation af egnede prokaryotiske eller eukaryotiske værtsceller såsom E. coli celler. Eksprimeringsprodukterne herfra, der er ikke naturligt forekommende polypeptider, opviser i det mindste delvis den primære strukturelle konformation og en eller flere biologiske egenskaber hørende til naturligt forekommende hpG-CSF.

FIG.1



P A T E N T K R A V

1. DNA-sekvens, der ved eksprimering i en prokaryotisk eller eukaryotisk værtscelle koder for et polypeptidprodukt, der besidder i det mindste en del af den primære struktur og en eller flere af de biologiske egenskaber for naturligt forekommende pluripotent granulocyt kolonistimulerende faktor, hvor DNA-sekvensen er kendetegnet ved at kode for en polypeptidanalogue af hpG-CSF, hvori en eller flere cysteinrester er slettet eller erstattet med alanin- eller serinrester.

2. DNA-sekvens ifølge krav 1, kendetegnet ved at kode for [Ser¹⁷]hpG-CSF.

3. cDNA-sekvens ifølge krav 1.

4. Genomisk DNA-sekvens ifølge krav 1.

5. DNA-sekvens ifølge krav 1, kendetegnet ved, at den er kovalent associeret med en påviselig markørsubstans, især en radioaktiv markør.

6. Enkeltstrenget DNA-sekvens ifølge krav 5.

7. Biologisk funktionelt plasmid eller viral DNA-vektor, kendetegnet ved, at det inkluderer en DNA-sekvens ifølge krav 1.

8. Prokaryotisk eller eukaryotisk værtscelle, kendetegnet ved, at den er transformeret eller transficeret med en DNA-sekvens ifølge krav 1 på en sådan måde, at værtscellen kan eksprimere det pågældende polypeptidprodukt.

9. Prokaryotisk eller eukaryotisk værtscelle, kendetegnet ved, at den er stabilt transformeret eller transficeret med en DNA-vektor ifølge krav 7.

10. Værtscelle ifølge krav 8 eller 9, kendetegnet ved, at værten er E. coli.

11. Fremgangsmåde til fremstilling af polypeptidanaloger af hpG-CSF, i hvilke en eller flere cysteinrester er slettet eller erstattet med alanin- eller serinrester, k e n d e t e g n e t ved, at man
5 under egnede næringsbetingelser dyrker prokaryotiske eller især eukaryotiske værtsceller, der er transfor- meret eller transficeret med en DNA-sekvens ifølge krav 1 på en sådan måde, at de kan eksprimere det nævnte polypeptid, og at man isolerer det ønskede po-
10 lypeptidprodukt fra ekspressionen af DNA-sekvensen.

12. Ikke naturligt forekommende polypeptidana- log af hpG-CSF, i hvilken en eller flere cystein- rester er slettet eller erstattet med alanin- eller serinrester, k e n d e t e g n e t ved, at den er
15 produkt af ekspression i en prokaryotisk eller især eukaryotisk værtscelle af DNA-sekvens ifølge krav 1.

13. Farmaceutisk præparat, k e n d e t e g - n e t ved, at det omfatter en effektiv mængde af po- lypeptidanalogen ifølge krav 12 og/eller fremstillet
20 ifølge krav 11, og et farmaceutisk acceptabelt for- tyndingsmiddel, adjuvans eller bærer.

14. Farmaceutisk præparat ifølge krav 13, yder- ligere k e n d e t e g n e t ved at være frit for association med noget som helst humant protein.

25 15. Anvendelse af polypeptidanalogen ifølge krav 12 til fremstilling af et lægemiddel til tilve- jebringelse af hæmatopoietisk terapi på et pattedyr.

FIG.1



RESTRIKTIONSENDONUCLEASEKORT (älv) ÖVER hpG-CSF-GENET