

【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27年5月28日(2015.5.28)

【公表番号】特表2013-519698(P2013-519698A)

【公表日】平成25年5月30日(2013.5.30)

【年通号数】公開・登録公報2013-027

【出願番号】特願2012-553263(P2012-553263)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/745 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/04 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 14/745 Z N A

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 16/00

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 7/04

A 6 1 K 37/02

【誤訳訂正書】

【提出日】平成27年4月10日(2015.4.10)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

共有結合により少なくとも1つの疎水性側鎖基にコンジュゲートされる組換えタンパク質であって、前記疎水性側鎖基が、シアル酸を介して前記タンパク質に連結され、前記タンパク質が凝固因子であり、前記凝固因子がFVIII分子であり、前記FVIII分子が低下したvWF結合能を有する、組換えタンパク質。

【請求項2】

疎水性側鎖基が、脂肪酸および脂肪族二塩基酸からなる群のうちの1または複数から選択される、請求項1に記載の組換えタンパク質。

【請求項3】

疎水性側鎖基が、シアル酸を介して、共有結合によりO-グリカンにコンジュゲートされ、前記O-グリカンが、欠失型Bドメインに位置し、因子VIIIの活性化が、前記疎水性側鎖基の除去を結果としてもたらす、請求項1または2に記載の組換えタンパク質。

【請求項4】

前記FVIII分子が少なくとも1つの親水性ポリマーとさらにコンジュゲートされる、請求項1～3のいずれか一項に記載の組換えタンパク質。

【請求項5】

シアリルトランスフェラーゼ触媒反応を介する、疎水性側鎖基の組換えタンパク質への結合を含む、請求項1から4のいずれか一項に記載の組換えタンパク質を作製する方法。

【請求項6】

薬物としての、請求項1から4のいずれか一項に記載の組換えタンパク質を含む医薬組成物。

【請求項7】

血友病を治療するための、請求項1から4のいずれか一項に記載の組換えタンパク質を含む医薬組成物。

【請求項8】

請求項1から4のいずれか一項に記載の組換えタンパク質を含む医薬組成物。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0024

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0024】

本発明による因子VIII分子は、配列番号2の残基1670～1684のvWF結合領域内には1または複数の変化もまた存在しうるが、残りのドメインは、配列番号2のアミノ酸番号1～740および1649～2332に示される配列に緊密に対応する、Bドメイン欠失型(truncated)因子FVIII分子でありうる。本発明による好ましいBドメインリンカー(21アミノ酸)を、配列番号4(SFSQNSRHPVLPVLRHQR)に示す。本発明によるFVIII分子は、配列番号2に示される配列と若干異なりうるが、これは、例えば、vWF結合能を低減する目的で、突然変異を導入しうる事実のために、残りのドメイン(すなわち、3つのAドメインおよび2つのCドメイン)が、配列番号2に示されるアミノ酸配列(アミノ酸1～740および1649～2332)とは若干、例えば、約1%、2%、または3%など、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10アミノ酸以上異なりうることを意味する。さらに、例えば、LRP、各種の受容体、他の凝固因子、細胞表面など、他の各種の構成要素、グリコシル化部位の導入および/または除去などにより、因子VIIIの結合能を修飾するために、分子内の他の位置にアミノ酸修飾(置換、欠失など)を導入することが妥当である。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0028

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0028】

欠失型(truncated)Bドメインは、複数のO-グリコシル化部位を含有しうる。しかし、好ましい実施形態によれば、該分子が、欠失型(truncated)Bドメイン内に含むO結合オリゴ糖は、1つ、代替的に、2つ、3つ、または4つだけである。好ましい実施形態によれば、欠失型(truncated)Bドメインが含む潜在的なO-グリコシル化部位は1つだけであり、1または複数の疎水性部分が、好ましくはリンカーを介して、共有結合によりこのO-グリコシル化部位にコンジュゲートされる。因子VIII分子はまた、多数のN結合オリゴ糖も含有し、これらのうちの各々は、疎水性側鎖基を結合させるためのアンカーとして潜在的に用いることができる。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0029

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0029】

野生型のFVIII分子におけるBドメインの長さは、約907アミノ酸である。本発明による分子における欠失型(truncated)Bドメインの長さは、例えば、約12～500アミノ酸、約12～400アミノ酸、12～300アミノ酸、12～200アミノ酸、15～100アミノ酸、15～75アミノ酸、15～50アミノ酸、15～45アミノ酸、20～45アミノ酸、20～40アミノ酸、または20～30ア

ミノ酸など、例えば、約10アミノ酸～約700アミノ酸など、約10～約800アミノ酸で変化する。欠失型(truncated)Bドメインは、重鎖および/もしくは軽鎖の断片、ならびに/または野生型FVIII分子内には見出されない、人工的に導入された配列の断片を含みうる。本明細書では、「Bドメイン欠失(truncated)」および「Bドメイン欠失(deleted)」という用語を互換的に用いることができる。

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 1 1

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 1 1】

本発明による特に興味深い実施形態では、因子VIII分子のvWF結合能が調整されており、好ましくは低減されている。さらに別の興味深い実施形態では、因子VIII分子が、好ましくは、Bドメインリンカーが、配列番号4に示される配列を有する、Bドメイン欠失型(truncated)変異体である。特に好ましい実施形態によれば、疎水性側鎖基が、共有結合により、因子VIII分子の欠失型(truncated)Bドメイン内に位置するO-グリカンにコンジュゲートされ、因子VIIIが活性化する結果として、疎水性側鎖基が除去される。別の実施形態では、Bドメイン内のO-グリカンを、例えば、PEG、HES、もしくはPSAなどの親水性ポリマー、または、例えば、アルブミンなどのペプチドとコンジュゲートする。配列番号4に示されるBドメインと類似するBドメイン内のO結合グリカンを、親水性ポリマーへとコンジュゲートする場合は、1または複数の疎水性側鎖基を、N結合グリカンにコンジュゲートすることが好ましく、この逆もまた成り立つ。親水性ポリマーはまた、化学的方法または酵素的方法を用いても、N結合グリカンおよび/またはO結合グリカンにおけるシアル酸を介して、FVIIIへとコンジュゲートすることができる。親水性ポリマーはまた、当技術分野において知られる他の方法を用いても、該分子へとコンジュゲートすることができる。

【誤訳訂正6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 2 8

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 2 8】

(実施例1)

組換えBドメイン欠失型(truncated)O-グリコシル化因子VIIIの生成
細胞系および培養工程

因子VIIIのcDNAを用いて、哺乳動物用の発現プラスミドを構築した。プラスミドは、Bドメイン欠失因子VIII、全長ヒト因子VIIIのアミノ酸1～740を含む因子VIII重鎖、および全長ヒト因子VIIIのアミノ酸1649～2332を含む因子VIII軽鎖(本明細書では、この分子を「N8」と称する場合がある;Thimら、Haemophilia(2010)、16、349頁を参照されたい)をコードする。重鎖配列および軽鎖配列は、全長ヒト因子VIIIのアミノ酸741～750および1638～1648による配列を含む21アミノ酸のリンカー(SFSQNSRHP SQNPPVLKRHQ R:配列番号4)により連結した。チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞に、このプラスミドをトランスフェクトし、ジヒドロ葉酸レダクターゼ系により選択し、最終的に、動物成分非含有培地中で培養されるクローン懸濁液生成細胞をもたらした。