

【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7月6日(2006.7.6)

【公表番号】特表2006-512894(P2006-512894A)

【公表日】平成18年4月20日(2006.4.20)

【年通号数】公開・登録公報2006-016

【出願番号】特願2004-511349(P2004-511349)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 0 7 K	16/06	(2006.01)
C 0 7 K	14/47	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/10	(2006.01)
G 0 1 N	33/15	(2006.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 0 7 K	19/00	
C 0 7 K	16/06	
C 0 7 K	14/47	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	9/10	1 0 1
G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/50	Z

【手続補正書】

【提出日】平成18年5月12日(2006.5.12)

【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】

a) GPVIの細胞外ドメインおよびコラーゲンとの結合について機能的なその変異体から選択されるGPVI部分;および、

b)免疫グロブリンのFcドメインおよびその機能保存変異体から選択されるFc部分、を含み、該GPVI部分とFc部分とがアミノ酸配列 Gly-Gly-Argを特徴とするリンカーを介して融合している融合タンパク質。

【請求項2】

そのFcドメインがIgG Fcドメインである請求項1の融合タンパク質。

【請求項3】

GPVIの細胞外ドメインがヒト由来である請求項1または請求項2の融合タンパク質。

【請求項4】

Fcドメインがヒト由来である請求項1~3のいずれかの融合タンパク質。

【請求項5】

Fcドメインの機能保存部分がコラーゲンとの結合について機能的な形態にて融合タンパ

ク質を細胞から分泌させることについて機能的である請求項1～4のいずれかの融合タンパク質。

【請求項6】

配列番号1のアミノ酸配列を特徴とする請求項1の融合タンパク質。

【化1】

```
1 MSPSPTALFC LGLCLGRVPA QSGPLPKPSL QALPSSLVPL EKPVTLCQG
 51 PPGVDLYRLE KLSSSRYQDQ AVLFIPIAMKR SLAGRYRCSY QNGSLWSLPS
 101 DQLELVATGV FAKPSLSAQGP GPAVSSGGDV TLQCQTRYGF DQFALYKEGD
 151 PAPYKNPERW YRASFPIITV TAAHSGTYRC YSFSSRDPYL WSAPSDPLEL
 201 VVTGTSVTPS RLPTEPPSSV AEFSEATAEL TVSFTNKVFT TETRSRISITTS
 251 PKESDSPAGP ARQYYTKNG GRESKSCDKT HTPCPCPAPE LLGGPSVFLF
 301 PPPKPKDTLMI SRTPEVTCVV DVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE
 351 EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP
 401 REPQVYTLPP SRDELTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT
 451 TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL
 501 SPGK*
```

(配列番号1)

【請求項7】

1または数個のアミノ酸においてグリコシル化されている請求項1～6のいずれかの融合タンパク質。

【請求項8】

ホモ二量体融合タンパク質である請求項1～7のいずれかの融合タンパク質。

【請求項9】

2つの単量体が共有結合している請求項8の融合タンパク質。

【請求項10】

蛍光標識されている請求項8または請求項9の融合タンパク質。

【請求項11】

以下の群から選択される配列を含む核酸配列：

a)配列番号2の核酸または遺伝コードの縮重によって同じポリペプチドをコードするその変異体；

【化2】

1 ATGTCTCCAT CCCCCGACCGC CCTCTTCTGT CTTGGGCTGT GTCTGGGGCG
 51 TGTGCCAGCG CAGAGTGGAC CGCTCCCCAA GCCCTCCCTC CAGGCTCTGC
 101 CCAGCTCCCT GGTGCCCTTG GAGAAGCCAG TGACCCCTCCG GTGCCAGGGA
 151 CCTCCGGGCG TGGACCTGTA CGCCTGGAG AAGCTGAGTT CCAGCAGGTA
 201 CCAGGATCAG GCAGTCCTCT TCATCCCGGC CATGAAGAGA AGTCTGGCTG
 251 GACGCTACCG CTGCTCCTAC CASAACGGAA GCCTCTGGTC CCTGCCAGC
 301 GACCAGCTGG AGCTCGTTGC CACGGGAGTT TTTGCCAAAC CCTCGCTCTC
 351 AGCCCAGCCC GGCCCGGGCGG TGTCGTCAGG AGGGGACGTA ACCCTACAGT
 401 GTCAGACTCG GTATGGCTPT GACCAATTG CTCTGTACAA GGAAGGGGAC
 451 CCTGCGCCCT ACAAGAATCC CGAGAGATGG TACCGGGCTA GTTCCCCAT
 501 CATCACGGTG ACCGCCGCC ACAGCGGAAC CTACCGATGC TACAGCTTCT
 551 CCAGCAGGGA CCCATACCTG TGGTCGGCCC CGAGCGACCC CCTGGAGCTT
 601 GTGGTCACAG GAACCTCTGT GACCCCCAGC CGGTTACCAA CAGAACCAAC
 651 TTCCTCGGTA GCAGAATTCT CAGAACCCAC CGCTGAACCT ACCGTCTCAT
 701 TCACAAACAA AGTCTTCACA ACTGAGACTT CTAGGAGTAT CACCACCAAGT
 751 CCAAAGGAGT CAGACTCTCC AGCTGGTCCT GCCCGCCAGT ACTACACCAA
 801 GGGCAACGGC GGCCGGCGAGT CCAAATCTTG TGACAAAAC CACACATGCC
 851 CACCGTGGCC AGCACCTGAA CTCCTGGGG GACCGTCAGT CTTCCCTTTC
 901 CCCCCAAAAC CCAAGGACAC CCTCATGATC TCCCGGACCC CTGAGGTCAC
 951 ATGCGTGGTG GTGGACGTGA GCCACGAAGA CCCTGAGGTC AAGTTCAACT
 1001 GGTACGTGGA CGCGTGGAG GTGCATAATG CCAAGACAAA GCCGCGGGAG
 1051 GAGCAGTACA ACAGCACGTA CCGTGTGGTC AGCGTCCTCA CCGTCCTGCA
 1101 CCAGGACTGG CTGAATGGCA AGGAGTACAA GTGCAAGGTC TCCAACAAAG
 1151 CCCTCCCAGC CCCCATCGAG AAAACCATCT CCAAAGCCAA AGGGCAGCCC
 1201 CGAGAGCCAC AGGTGTACAC CCTGCCCTCA TCCCGGGATG AGCTGACCAA
 1251 GAACCAGGTC AGCCTGACCT GCCTGGTCAA AGGCTTCTAT CCCAGCGACA
 1301 TCGCCGTGGA GTGGGAGAGC AATGGGCAGC CGGAGAACAA CTACAAGACC
 1351 ACGCCTCCCG TGCTGGACTC CGACGGCTCC TTCTTCCTCT ACAGCAAGCT
 1401 CACCGTGGAC AAGAGCAGGT GGCAGCAGGG GAACGTCTTC TCATGCTCCG
 1451 TGATGCATGA GGCTCTGCAC AACCACTACA CGCAGAAGAG CCTCTCCCTG
 1501 TCTCCGGGTA AATGA

(配列番号2)

b)配列番号2によってコードされるポリペプチドと少なくとも 70%の配列相同性を有するポリペプチドをコードする核酸配列であり、そのN-末端からそのC-末端の順に、GPVIの細

胞外ドメインまたはコラーゲンとの結合について機能的であるその変異体、アミノ酸配列 Gly-Gly-Argを有するリンカー、およびFcドメインまたはコラーゲンとの結合について機能的な形態にて細胞から該核酸によってコードされるタンパク質を分泌させる能力について機能的なその機能保存変異体、を含むポリペプチドをコードする核酸配列；および、c)5'～3'方向において、GPVIの細胞外ドメインまたはコラーゲンとの結合について機能的なその変異体を含む少なくとも 100 アミノ酸をコードする第一のセグメント、アミノ酸配列 Gly-Gly-Argをコードする第二のセグメント、および、コラーゲンとの結合について機能的な形態にて細胞から該核酸によってコードされるタンパク質を分泌させる能力についてFcドメインと同様に機能的な少なくとも 200 アミノ酸をコードする第三のセグメントを有する少なくとも300アミノ酸のポリペプチドをコードする核酸。

【請求項 1 2】

配列番号 2 の配列を特徴とする請求項 11 の核酸。

【請求項 1 3】

配列番号 2 の塩基 1～807 に対応する位置の塩基が GPVI の細胞外ドメインをコードする請求項 11 の b または c の核酸。

【請求項 1 4】

配列番号 2 の塩基 817～1515 に対応する位置の塩基が IgG 免疫グロブリンの Fc ドメインをコードする請求項 11 の b または c の核酸。

【請求項 1 5】

請求項 11～14 のいずれかの核酸にコードされるタンパク質。

【請求項 1 6】

請求項 11～14 のいずれかの核酸によってコードされる 2 本のポリペプチド鎖を含み、各鎖が鎖間ジスルフィド結合によって他方の鎖のヒンジ領域に連結しているヒンジ領域を有する、アテローム性動脈硬化症の治療または予防のための抗アテローム硬化性医薬組成物。

【請求項 1 7】

請求項 11～14 のいずれかの核酸を含むベクター。

【請求項 1 8】

請求項 1～7 のいずれかの融合タンパク質または請求項 8 または 9 のホモ二量体融合タンパク質を発現する細胞。

【請求項 1 9】

請求項 8 または請求項 9 のホモ二量体融合タンパク質を含む医薬組成物。

【請求項 2 0】

GPVI の細胞外ドメインまたはコラーゲンとの結合について機能的であるその変異体；および免疫グロブリンの Fc ドメインまたはその機能保存部分を含み、該細胞外ドメインまたはその変異体および該 Fc ドメインまたはその機能保存部分がアミノ酸配列 Gly-Gly-Arg を特徴とするリンカーを介して融合しているホモ二量体融合タンパク質であるイムノアドヘシンを含む医薬組成物。

【請求項 2 1】

イムノアドヘシンが配列番号 1 のポリペプチドのホモ二量体である請求項 20 の医薬組成物。

【請求項 2 2】

静脈内用調製物である請求項 20 または請求項 21 の医薬組成物。

【請求項 2 3】

請求項 8 または請求項 9 のホモ二量体融合タンパク質またはホモ二量体形態の場合の請求項 15 のタンパク質を含む、患者におけるアテローム性動脈硬化症の治療または予防のための医薬組成物。

【請求項 2 4】

アテローム進行の予防のための請求項 23 の医薬組成物。

【請求項 2 5】

請求項8または請求項9のホモ二量体融合タンパク質またはホモ二量体形態の場合の請求項15のタンパク質を含む、患者における動脈内血栓症の予防のための医薬組成物。

【請求項26】

患者が急性冠症候群または頸動脈症候群に罹患しており、かつ、活動性動脈内病変を有する、請求項25の医薬組成物。

【請求項27】

糖尿病のアテローム硬化性合併症の治療のための、請求項23~26のいずれかの医薬組成物。

【請求項28】

請求項8または請求項9のホモ二量体融合タンパク質、またはホモ二量体形態の場合の請求項15のタンパク質を含む、心筋梗塞および/または脳卒中の治療または予防のための医薬組成物。

【請求項29】

経口、皮下、腹腔内または静脈内投与用の請求項23~28のいずれかの医薬組成物。

【請求項30】

融合タンパク質0.5~6.0 mg/kgを送達するための剤形である請求項23~29のいずれかの医薬組成物。

【請求項31】

GPVIとコラーゲンとの結合の阻害剤をインピトロでスクリーニングするための請求項8または請求項9のホモ二量体融合タンパク質またはホモ二量体形態の場合の請求項15のタンパク質の使用。

【請求項32】

ホモ二量体融合タンパク質が蛍光標識されている請求項31の使用。

【請求項33】

以下の工程を含む糖タンパク質 VIのコラーゲンへの結合の阻害剤をインピトロでスクリーニングする方法：

- (i)コラーゲンを露出する表面を提供する工程；
- (ii)該表面の一部分と、請求項8または請求項9の融合タンパク質またはホモ二量体形態の場合の請求項15のタンパク質とを、該融合タンパク質の該表面への結合を可能とするあらかじめ決められた条件下で接触させる工程；
- (iii)該表面の別の部分と、該融合タンパク質とを、工程(ii)の条件下で被験化合物の存在下で接触させる工程；
- (iv)該被験化合物の非存在下および存在下での該表面に結合した該融合タンパク質の量を測定する工程；
- (v)被験化合物の非存在下と比較して該被験化合物の存在下において該表面への該融合タンパク質の結合が少なければ該被験化合物を阻害剤として同定する工程；および、
- (vi)所望により血小板凝集および/または血小板活性化に対する該阻害剤の機能的効果を測定する工程。

【請求項34】

請求項8または請求項9のホモ二量体融合タンパク質またはホモ二量体形態の場合の請求項15のタンパク質の、GPVIに媒介される血小板の活動性血管内病変への付着の阻害剤をインピトロでスクリーニングするための使用。

【請求項35】

請求項8または請求項9のホモ二量体融合タンパク質またはホモ二量体形態の場合の請求項15のタンパク質を免疫原として使用することを含む非ヒト哺乳類からのモノクローナル抗体の產生方法。

【請求項36】

静脈内血栓の形成の予防または病的アテローム硬化性病変の発症または進行の制御のための請求項35のモノクローナル抗体を含む医薬組成物。