

【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20年4月3日(2008.4.3)

【公表番号】特表2007-522806(P2007-522806A)

【公表日】平成19年8月16日(2007.8.16)

【年通号数】公開・登録公報2007-031

【出願番号】特願2006-553197(P2006-553197)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 0 7 K	14/475	(2006.01)
C 0 7 K	14/52	(2006.01)
C 0 7 K	14/575	(2006.01)
C 0 7 K	14/47	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 0 7 K	14/76	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	47/48	(2006.01)
A 6 1 K	47/42	(2006.01)
A 6 1 K	38/21	(2006.01)
A 6 1 K	38/22	(2006.01)
A 6 1 K	39/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/55	(2006.01)
A 6 1 K	38/43	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	5/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	37/08	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	5/00	A
C 0 7 K	14/475	
C 0 7 K	14/52	
C 0 7 K	14/575	
C 0 7 K	14/47	
C 0 7 K	19/00	
C 0 7 K	14/76	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	37/66	H

A 6 1 K	37/24	
A 6 1 K	39/00	G
A 6 1 K	37/64	
A 6 1 K	37/48	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	43/00	1 1 7
A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	5/00	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	37/08	

**【手続補正書】****【提出日】**平成20年2月8日(2008.2.8)**【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】**

2またはそれ以上のタンデムに配向したG L P - 1ポリペプチドを含むアルブミン融合蛋白質であって、該G L P - 1ポリペプチドが、アルブミン、アルブミン断片またはアルブミン変異体に融合された野生型G L P - 1、G L P - 1断片、またはG L P - 1変異体から選択され、該アルブミン断片またはアルブミン変異体が、非融合G L P - 1ポリペプチドの血清血漿半減期を増加させ、該融合蛋白質が、G L P - 1活性を有し、該アルブミン融合蛋白質がリーダー配列を含む、アルブミン融合蛋白質。

**【請求項2】**

該タンデムに配向したG L P - 1ポリペプチドが、少なくとも1つのG L P - 1断片配列に融合された少なくとも1つの野生型G L P - 1配列から選択される、請求項1記載のアルブミン融合蛋白質。

**【請求項3】**

該タンデムに配向したG L P - 1ポリペプチドが、少なくとも1つのG L P - 1変異体配列に融合された少なくとも1つの野生型G L P - 1配列から選択される、請求項1記載のアルブミン融合蛋白質。

**【請求項4】**

該タンデムに配向したG L P - 1ポリペプチドが、少なくとも1つのG L P - 1変異体配列に融合された少なくとも1つのG L P - 1断片配列から選択される、請求項1記載のアルブミン融合蛋白質。

**【請求項5】**

少なくとも1つの該G L P - 1断片またはG L P - 1変異体が、

- ( a ) G L P - 1 ( 9 - 3 6 ) ;
- ( b ) G L P - 1 ( 7 - 3 6 ) ; または
- ( c ) G L P - 1 ( 7 - 3 6 ( A 8 G ) )

から選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

**【請求項6】**

該G L P - 1断片またはG L P - 1変異体が、2つのタンデムに配向したG L P - 1 ( 7 - 3 6 ( A 8 G ) )から選択される、請求項5記載のアルブミン融合蛋白質。

**【請求項7】**

該アルブミン融合蛋白質を発現するコンストラクトを含む宿主細胞から產生される請求

項 1 記載のアルブミン融合蛋白質であって、ここで、該コンストラクトが表 2 に記載の以下のコンストラクト：

- ( a ) コンストラクト番号 3 6 1 0 ; または
- ( b ) コンストラクト番号 3 6 9 6

から選択される、アルブミン融合蛋白質。

【請求項 8】

アルブミンに融合された 2 またはそれ以上のタンデムに配向した G L P - 1 ポリペプチドを含む請求項 1 記載のアルブミン融合蛋白質であって、ここで、該 G L P - 1 ポリペプチドが、

- ( a ) 配列番号：3 8 7 のアミノ酸 1 ~ 3 0 ; および
- ( b ) 配列番号：3 9 0 のアミノ酸 1 ~ 3 0

からなる群より選択される少なくとも 1 つのアミノ酸配列を含む、アルブミン融合蛋白質。

【請求項 9】

該 G L P - 1 ポリペプチドが、少なくとも 2 つの( a )のアミノ酸配列を含む、請求項 8 記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 10】

該 G L P - 1 ポリペプチドが、少なくとも 2 つの( b )のアミノ酸配列を含む、請求項 8 記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 11】

該 G L P - 1 ポリペプチドが、少なくとも 1 つの( a )のアミノ酸配列および少なくとも 1 つの( b )のアミノ酸配列を含む、請求項 8 記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 12】

アルブミンに融合された 2 またはそれ以上のタンデムに配向した G L P - 1 ポリペプチドを含む請求項 1 記載のアルブミン融合蛋白質であって、ここで、該アルブミン融合蛋白質が、

- ( a ) 配列番号：3 1 9 のアミノ酸 2 5 ~ 6 6 9 ; および
- ( b ) 配列番号：3 2 2 のアミノ酸 2 2 ~ 6 6 6

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、アルブミン融合蛋白質。

【請求項 13】

少なくとも 2 つの該タンデムに配向した G L P - 1 ポリペプチドが、アルブミン、アルブミン断片またはアルブミン変異体の N 末端または C 末端で融合された、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 14】

該アルブミンがヒトアルブミンである、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 15】

配列番号：1 を含む請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 16】

2 またはそれ以上の該タンデムに配向した G L P - 1 ポリペプチドが、遺伝子工学的に、該アルブミン、そのアルブミン断片またはアルブミン変異体に融合された請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 17】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 18】

請求項 1 7 記載の核酸を含むベクター。

【請求項 19】

請求項 1 8 記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 2 0】

酵母細胞または哺乳類細胞である、請求項 1 9 記載の宿主細胞。

【請求項 2 1】

該酵母が、*S. cerevisiae*、*K. lactis* または *P. pastoris* である、請求項 2 0 記載の宿主細胞。

【請求項 2 2】

該酵母がグリコシル化欠損である、請求項 2 0 または 2 1 記載の宿主細胞。

【請求項 2 3】

該酵母がグリコシル化およびプロテアーゼ欠損である、請求項 2 0 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の宿主細胞。

【請求項 2 4】

該哺乳類細胞が、CHO 細胞、COS 細胞、または NS0 細胞である、請求項 2 0 記載の宿主細胞。

【請求項 2 5】

グリコシル化された、またはグリコシル化されていない請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 2 6】

酵母中で発現される請求項 1 ~ 1 6 および 2 5 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 2 7】

該酵母が、*S. cerevisiae*、*K. lactis* または *P. pastoris* である、請求項 2 6 記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 2 8】

該酵母がグリコシル化欠損である、請求項 2 6 または 2 7 記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 2 9】

該酵母がグリコシル化およびプロテアーゼ欠損である、請求項 2 6 ~ 2 8 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 3 0】

哺乳類細胞により発現される請求項 1 ~ 1 6 および 2 5 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 3 1】

該哺乳類細胞が、CHO 細胞、COS 細胞、または NS0 細胞である、請求項 3 0 記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 3 2】

リーダー配列が、

- (a) HSA リーダー配列のプレプロ領域；
- (b) キラー毒素リーダー配列；
- (c) HSA / Kex2 リーダー配列；
- (d) 酵母接合因子アルファシグナル配列；
- (e) 修飾 HSA / kex2 リーダー配列；
- (f) MPIF - 1 リーダー配列；および
- (g) コンセンサスリーダー配列

からなる群より選択される、請求項 1 ~ 1 6 および 2 5 ~ 3 1 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 3 3】

リーダー配列が、配列番号：112 のアミノ酸をコードする修飾 HSA / Kex2 リーダー配列である、請求項 3 2 記載のアルブミン融合蛋白質。

【請求項 3 4】

請求項 1 ~ 1 6 および 2 5 ~ 3 3 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質および医薬上許容される担体を含む組成物。

**【請求項 3 5】**

( a ) 少なくとも 1 つ の請求項 1 ～ 8 記載のベクターを含む宿主細胞を形質転換すること；  
( b ) アルブミン融合蛋白質の発現に適當な条件で宿主細胞を培養すること；および  
( c ) アルブミン融合蛋白質を単離すること  
を含むアルブミン融合蛋白質を產生する方法。

**【請求項 3 6】**

さらに、単離されたアルブミン融合蛋白質がリーダー配列を除去するためのプロセシングを受ける、請求項 3 5 記載の方法。

**【請求項 3 7】**

請求項 1 ～ 1 6 、 2 5 ～ 3 3 および 3 6 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質の有効量を投与することを含む、疾患、病態、または障害がある患者を処置する方法であって、該疾患、病態、または障害が、高血糖、糖尿病、尿崩症、インスリン抵抗性、インスリン欠乏、脂質異常症、高ケトン血症、肥満症、代謝性障害、体重抑制、食欲抑制、認識機能障害、および記憶喪失、シンドローム X 、および / または心疾患、感染症、網膜症、潰瘍、免疫障害、および血管障害を伴う糖尿病から選択される、方法。

**【請求項 3 8】**

請求項 1 ～ 1 6 、 2 5 ～ 3 3 および 3 6 のいずれか一項に記載のアルブミン融合蛋白質の有効量を該患者に投与することを含む、インスリン合成および放出を刺激する、インスリン取り込みに対する脂肪、筋肉もしくは肝組織感受性を亢進する、グルコース取り込みを刺激する、消化作用を遅延する、または患者のグルカゴンの分泌を阻害する方法。

**【請求項 3 9】**

コンストラクト番号 3 6 1 0 を含む宿主細胞から產生されるアルブミン融合蛋白質の有効量を投与することを含む、疾患、病態、または障害がある患者を処置する方法であって、該アルブミン融合蛋白質が、配列番号： 3 1 9 のアミノ酸 2 5 ～ 6 6 9 を含み、該疾患、病態、または障害が、高血糖、糖尿病、尿崩症、インスリン抵抗性、インスリン欠乏、脂質異常症、高ケトン血症、肥満症、代謝性障害、体重抑制、食欲抑制、認識機能障害、および記憶喪失、シンドローム X 、および / または心疾患、感染症、網膜症、潰瘍、免疫障害、および血管障害を伴う糖尿病から選択される、方法。

**【請求項 4 0】**

コンストラクト番号 3 6 1 0 を含む宿主細胞から產生されるアルブミン融合蛋白質の有効量を該患者に投与することを含む、インスリン合成および放出を刺激する、脂肪、筋肉もしくは肝組織感受性を亢進する、グルコース取り込みを刺激する、消化作用を遅延する、または患者のグルカゴンの分泌を阻害する方法であって、該アルブミン融合蛋白質が、配列番号： 3 1 9 のアミノ酸 2 5 ～ 6 6 9 を含む、方法。