(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014 年 10 月 2 日(02.10.2014)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2014/157429 A1

(51) 国際特許分類:
C12N 5/10 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01) *C12N 15/09* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) *C12P 21/02* (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2014/058702

(22) 国際出願日: 2014 年 3 月 26 日(26.03.2014)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2013-064357 2013 年 3 月 26 日(26.03.2013) JP
特願 2013-261178 2013 年 12 月 18 日(18.12.2013) JP

(71) 出願人: 株式会社　ニッピ(**NIPPI, INCORPORATED**) [JP/JP]; 〒1208601 東京都足立区千住緑町１丁目１番地１ Tokyo (JP).

(72) 発明者: 上野　智規(**UENO, Tomonori**); 〒1208601 東京都足立区千住緑町１丁目１番地１　株式会社ニッピ内 Tokyo (JP). 多賀　祐喜(**TAGA, Yuki**); 〒1208601 東京都足立区千住緑町１丁目１番地１　株式会社ニッピ内 Tokyo (JP). 後藤　希代子(**GOTO, Kiyoko**); 〒1208601 東京都足立区千住緑町１丁目１番地１　株式会社ニッピ内 Tokyo (JP). 加来　祐子(**KAKU, Yuko**); 〒1208601 東京都足立区千住緑町１丁目１番地１　株式会社ニッピ内 Tokyo (JP). 佐々木　純(**SASAKI, Jun**); 〒1208601 東京都足立区千住緑町１丁目１番地１　株式会社ニッピ内 Tokyo (JP). 藤田　和将(**FUJITA, Kazumasa**); 〒1208601 東京都足立区千住緑町１丁目１番地１　株式会社ニッピ内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 小野　新次郎, 外(**ONO, Shinjiro** et al.); 〒1000004 東京都千代田区大手町二丁目２番１号 新大手町ビル２０６区　ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）
— 規則 13 の 2 に基づいて明細書とは別に提出された、寄託された生物材料に関する表示（規則 13 の 2.4(d)(i)及び 48.2(a)(viii)）
— 明細書の別個の部分として表した配列リスト（規則 5.2(a)）

(54) **Title**: METHOD FOR PRODUCING PROTEIN

(54) 発明の名称 : タンパク質の製造方法

(57) **Abstract**: It has been considered that the promotion of the formation of a polysome, which is a substance composed of mRNA and many ribosomes attached to the mRNA, is very effective for the highly efficient synthesis of a protein. However, the mechanism of the polysome formation promotion function of p180 protein was not revealed yet. The inventors of the present application newly discovered SF3b4 protein as a protein that can interact specifically with a coiled-coil domain, which is a domain responsible for the polysome formation promotion function of p180 protein, and as a protein that can promote the localization of mRNA in an endoplasmic reticulum (ER), and the inventors found that the localization of mRNA in an endoplasmic reticulum is significantly increased and the secreting function of a cultured cell can be enhanced in a cell that can express both a protein capable of promoting the localization of mRNA in an endoplasmic reticulum (ER) (e.g., SF3b4 protein) and p180 protein at high levels. It is demonstrated that SF3b4 protein, which is a protein having a protein expression enhancement effect, can be localized on the membrane of an endoplasmic reticulum and the weight of mRNA in a polysome can be shifted to a high level by inserting a specific nucleotide sequence into an expression plasmid, and it is also demonstrated that the secreting ability of a cell can be increased through the shift.

(57) 要約:　高効率なタンパク質合成には mRNA に多数のリボソームの付着したポリソーム形成の促進が非常に効果的であると考えられていたが、p180 タンパク質のポリソーム形成の促進機能の機構は明らかではなかった。　本出願の発明者らは、p180 タンパク質のポリソーム形成促進機能の責任領域である coiled-coil ドメインと特異的に相互作用するタンパク質、mRNA の小胞体（ER）局在化を促進するタンパク質としての SF3b4 タンパク質を新たに見出し、そして、mRNA の小胞体（ER）局在化を促進するタンパク質（例えば、SF3b4 タンパク質）と p180 タンパク質の両方を高発現する細胞において、mRNA の小胞体上への局在化が著しく上昇し、培養細胞の分泌機能を上昇させることが可能となることを明らかにした。また、発現プラスミド中にも特定のヌクレオチド配列を挿入することにより、タンパク質発現増強効果のある SF3b4 タンパク質を小胞体膜上へ局在化、およびポリソーム中 mRNA を重量化シフトさせることが可能となり、これを介して細胞の分泌能を増強可能であることが示された。

WO 2014/157429 A1