

【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28年8月25日 (2016.8.25)

【公表番号】特表2015-524662(P2015-524662A)

【公表日】平成27年8月27日 (2015.8.27)

【年通号数】公開・登録公報2015-054

【出願番号】特願2015-525545(P2015-525545)

【国際特許分類】

C 1 2 N 9/14 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 0 7 K 14/79 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/43 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 47/42 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 9/14 Z N A

C 1 2 N 9/16

C 0 7 K 14/79

C 1 2 N 15/00 A

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 3/00

A 6 1 K 37/48

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 47/42

【手続補正書】

【提出日】平成28年7月6日 (2016.7.6)

【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】

哺乳動物細胞中に発現された（または産生された）対応する L S D タンパク質と比較して少なくとも 75 % 脱リン酸化された単離 ヒトイズロン酸 - 2 - スルファターゼ (I D S) ポリペプチド。

【請求項 2】

前記 ヒト I D S ポリペプチドが少なくとも 80 % 脱リン酸化されている、請求項 1 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 3】

前記 ヒト I D S ポリペプチドが配列番号 2 と少なくとも 90 % 同一である、請求項 1 または 2 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 4】

前記 ヒト I D S ポリペプチドが 1 つ以上の N 結合型オリゴマンノースグリカンを含む、請求項 3 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 5】

前記ヒトIDSポリペプチドが、1、2、3、4、5、6、7、または8個のN結合型オリゴマンノースグリカンを含む、請求項4に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 6】

前記ヒトIDSポリペプチドが、イデュルスルファターゼとして少なくとも約75%の数または量のN結合型オリゴマンノースグリカンを含む、請求項4または5に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 7】

前記1つ以上のN結合型オリゴマンノースグリカンが少なくとも75%脱リン酸化されている、請求項4～6のいずれかに記載の単離ポリペプチド。

【請求項 8】

前記ヒトIDSが、イデュルスルファターゼと比較してマンノース-6-リン酸(M6P)残基を実質的に含まない、請求項7に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 9】

M6P含有量が約1.2 pmol M6P / pmol IDSタンパク質未満である、請求項8に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 10】

M6P含有量が約0.5 pmol M6P / pmol IDSタンパク質未満である、請求項9に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 11】

M6P含有量が約0.15 pmol M6P / pmol IDSタンパク質未満である、請求項10に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 12】

p97結合体を形成するために請求項1～11のいずれかに記載の単離IDSポリペプチドに共有結合性に連結されたか作動可能に連結されたp97ポリペプチドを含む結合体。

【請求項 13】

請求項1～11のいずれかに記載のヒトイズロン酸-2-スルファターゼ(IDS)ポリペプチドまたは請求項12に記載のp97結合体、および薬学的に許容され得るキャリアを含む組成物。

【請求項 14】

ムコ多糖体沈着症II型(ハンター症候群)の処置のための医薬の調製における請求項13に記載の組成物の使用。

【請求項 15】

前記ハンター症候群が中枢神経系(CNS)合併症を有するか、CNS合併症を発症するリスクがある、請求項14に記載の使用。

【請求項 16】

実質的に脱リン酸化されたヒトイズロン酸-2-スルファターゼ(IDS)を産生する方法であって、ヒト細胞株中で前記ヒトIDSを組換え的に産生する工程、組換え的に産生された前記ヒトIDSを、同一のヒト細胞株中で産生された非処理ヒトIDSと比較して前記ヒトIDSのマンノース-6-リン酸(M6P)含有量が少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、または99%減少するのに十分な時間ホスファターゼで処理する工程を含む、方法。

【請求項 17】

前記ヒト細胞株がHT-1080線維肉腫細胞株である、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

前記ホスファターゼが仔牛腸アルカリホスファターゼ(CIP)である、請求項16または17に記載の方法。

【請求項 19】

単離ヒトイズロン酸-2-スルファターゼ(IDS)ポリペプチドであって、前記ヒト

I D S ポリペプチドが配列番号 2 のアミノ酸配列またはその改変体を含むか配列番号 2 のアミノ酸配列またはその改変体からなり、マンノース - 6 - リン酸 (M 6 P) 含有量が約 1 . 2 p m o l M 6 P / p m o l I D S タンパク質未満である、単離ヒトイズロン酸 - 2 - スルファターゼ (I D S) ポリペプチド。

【請求項 2 0】

前記 M 6 P 含有量が約 0 . 5 p m o l M 6 P / p m o l I D S タンパク質未満である、請求項 1 9 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 2 1】

前記 M 6 P 含有量が約 0 . 1 5 p m o l M 6 P / p m o l I D S タンパク質または約 0 . 1 5 p m o l M 6 P / p m o l I D S タンパク質未満である、請求項 1 9 に記載の単離ポリペプチド。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 7】

本発明のこれらおよび他の態様は、以下の詳細な説明および添付の図面を参照した際に明らかとなるであろう。本明細書中に開示の全ての文献は、それぞれが個別に援用されたかのように、その全体が本明細書中で参考として援用される。

特定の実施形態では、本発明は、例えば、以下を提供する。

(項目 1)

哺乳動物細胞中に発現された (または産生された) 対応する L S D タンパク質と比較して実質的に脱リン酸化された単離リソソーム蓄積症 (L S D) ポリペプチド。

(項目 2)

前記 L S D ポリペプチドが少なくとも約 7 5 % 脱リン酸化されている、項目 1 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 3)

前記 L S D ポリペプチドが少なくとも約 8 0 % 脱リン酸化されている、項目 1 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 4)

前記 L S D ポリペプチドが 1 つ以上の N 結合型オリゴマンノースグリカンを含む、前記項目のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド。

(項目 5)

前記 L S D ポリペプチドが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 1 0 個の N 結合型オリゴマンノースグリカンを含む、項目 1 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 6)

前記 L S D ポリペプチドが、対応する L S D タンパク質として少なくとも約 7 5 % の数または量の N 結合型オリゴマンノースグリカンを有する、前記項目のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7)

前記 L S D ポリペプチドが、哺乳動物細胞中に発現された (または産生された) 対応する L S D タンパク質と比較して、N 結合型オリゴマンノースグリカンのマンノース - 6 - リン酸 (M 6 P) 残基を実質的に含まない、項目 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド。

(項目 8)

前記 L S D ポリペプチドが、酸性ホスファターゼまたはアルカリホスファターゼでの酵素消化によって脱リン酸化される、前記項目のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド。

(項目 9)

前記 L S D ポリペプチドが、以下のものの活性フラグメントおよび改変体を含む、イズロン酸 - 2 - スルファターゼ、L - イズロニダーゼ、アスパルチルグルコサミニダーゼ、酸性リパーゼ、システイン輸送体、L a m p - 2、 - ガラクトシダーゼ A、酸性セラミダーゼ、 - L - フコシダーゼ、 - ヘキソサミニダーゼ A、G M 2 - ガングリオシドアクチベーター (G M 2 A)、 - D - マンノシダーゼ、 - D - マンノシダーゼ、アリアルスルファターゼ A、サポシン B、ノイラミニダーゼ、 - N - アセチルグルコサミニダーゼホスホトランスフェラーゼ、ホスホトランスフェラーゼ - サブユニット、ヘパラン - N - スルファターゼ、 - N - アセチルグルコサミニダーゼ、アセチル C o A : N - アセチルトランスフェラーゼ、N - アセチルグルコサミン 6 - スルファターゼ、ガラクトース 6 - スルファターゼ、 - ガラクトシダーゼ、N - アセチルガラクトサミン 4 - スルファターゼ、ヒアルロノグルコサミニダーゼ、スルファターゼ、パルミトイルプロテインチオエステラーゼ、トリペプチジルペプチダーゼ I、酸性スフィンゴミエリナーゼ、カテプシン A、カテプシン K、 - ガラクトシダーゼ B、N P C 1、N P C 2、シアリン、およびシアル酸輸送体のうちの 1 つ以上から選択される、前記項目のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 0)

前記 L S D ポリペプチドがヒトポリペプチドである、前記項目のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 1)

前記 L S D ポリペプチドが、ヒトイズロン酸 - 2 - スルファターゼ (I D S)、またはその活性フラグメントもしくは改変体である、前記項目のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 2)

前記ヒト I D S が配列番号 2 と少なくとも 9 0 % 同一である、項目 1 1 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 3)

前記ヒト I D S が 1 つ以上の N 結合型オリゴマンノースグリカンを含む、項目 1 2 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 4)

前記ヒト I D S が、1、2、3、4、5、6、7、または 8 個の N 結合型オリゴマンノースグリカンを含む、項目 1 3 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 5)

前記ヒト I D S が、哺乳動物細胞、任意選択的にヒト細胞中に産生された (発現された) 対応する野生型ヒトイズロン酸 - 2 - スルファターゼとして少なくとも約 7 5 % の数または量の N 結合型オリゴマンノースグリカンを含む、項目 1 3 または 1 4 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 6)

前記 1 つ以上の N 結合型オリゴマンノースグリカンが、哺乳動物細胞、任意選択的にヒト細胞中に産生された (発現された) 対応するヒト I D S の N 結合型オリゴマンノースグリカンと比較して実質的に脱リン酸化されている、項目 1 3 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 7)

前記 1 つ以上の N 結合型オリゴマンノースグリカンが少なくとも 7 5 % 脱リン酸化されている、項目 1 6 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 8)

前記ヒト I D S が、哺乳動物細胞中で産生された対応する I D S と比較してマンノース - 6 - リン酸 (M 6 P) 残基を実質的に含まない、項目 1 6 または 1 7 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 1 9)

M 6 P 含有量が約 1 . 2 p m o l M 6 P / p m o l I D S タンパク質未満である、

項目 18 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 20)

M6P 含有量が約 0.5 pmol M6P / pmol IDS タンパク質未満である、
項目 19 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 21)

M6P 含有量が約 0.15 pmol M6P / pmol IDS タンパク質未満である
、項目 20 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 22)

前記 LSD ポリペプチドが、ヒト - L - イズロニダーゼ (IDU) またはその活性フ
ラグメントもしくは改変体である、項目 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチ
ド。

(項目 23)

前記ヒト IDU が配列番号 3 と少なくとも 90 % 同一である、項目 22 に記載の単離ポ
リペプチド。

(項目 24)

前記ヒト IDU が 1 つ以上の N 結合型オリゴマンノースグリカンを含む、項目 22 また
は 23 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 25)

前記ヒト IDU が、1、2、3、4、5、または 6 個の N 結合型オリゴマンノースグリ
カンを含む、項目 24 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 26)

前記ヒト IDU が、哺乳動物細胞、任意選択的にヒト細胞中に産生された (発現された)
) 対応するヒト IDU として少なくとも約 75 % の数または量の N 結合型オリゴマンノ
ースグリカンを含む、項目 24 または 25 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 27)

前記 1 つ以上の N 結合型オリゴマンノースグリカンが、哺乳動物細胞、任意選択的にヒ
ト細胞中に産生された (発現された) 対応するヒト IDU の N 結合型オリゴマンノースグ
リカンと比較して、実質的に脱リン酸化されている、項目 24 ~ 26 のいずれか 1 項に記
載の単離ポリペプチド。

(項目 28)

前記 1 つ以上の N 結合型オリゴマンノースグリカンが少なくとも 75 % 脱リン酸化され
ている、項目 27 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 29)

前記ヒト IDU が、哺乳動物細胞中に産生された対応する IDU と比較して、マンノ
ース - 6 - リン酸 (M6P) 残基を実質的に含まない、項目 28 に記載の単離ポリペプチド
。

(項目 30)

前記対応するタンパク質が野生型タンパク質である、前記項目のいずれか 1 項に記載の
単離ポリペプチド。

(項目 31)

前記対応するタンパク質がヒト細胞株中に産生されたイデュルスルファターゼである、前
記項目のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド。

(項目 32)

前記哺乳動物細胞が、CHO 細胞、HEK293 細胞、HeLa 細胞、および HT - 1
080 線維肉腫細胞から選択される、前記項目のいずれか 1 項に記載の単離ポリペプチド
。

(項目 33)

p97 結合体を形成するために前記項目のいずれか 1 項に記載の実質的に脱リン酸化さ
れた LSD ポリペプチドに共有結合性に連結されたか作動可能に連結された p97 ポリペ
プチドを含む結合体。

(項目 3 4)

前記項目のいずれか 1 項に記載の単離リソソーム蓄積症 (L S D) ポリペプチドまたは p 9 7 結合体を含む組成物。

(項目 3 5)

薬学的に許容され得るキャリアを含む、項目 3 4 に記載の組成物。

(項目 3 6)

項目 3 4 または 3 5 に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、処置を必要とする被験体におけるリソソーム蓄積症 (L S D) を処置する方法。

(項目 3 7)

前記 L S D が、1 つ以上のムコ多糖体沈着症 I I 型 (ハンター症候群)、ムコ多糖体沈着症 I 型 (ハーラー症候群)、アスパルチルグルコサミン尿、コレステロールエステル蓄積症、ウォルマン病、シスチン蓄積症、ダノン病、ファブリー病、ファーバー脂肪肉芽腫症、ファーバー病、フコース蓄積症、ガラクトシアリドーシス I 型 / I I 型、ゴーシェ病 I 型 / I I 型 / I I I 型、ゴーシェ病、グロバイド細胞白質ジストロフィ (g l o b o i d c e l l l e u c o d y s t r o p h y)、クラッペ病、糖原貯蔵障害 I I、ポンペ病、G M 1 - ガングリオシドーシス I 型 / I I 型 / I I I 型、G M 2 - ガングリオシドーシス I 型、テイ・サックス病、G M 2 - ガングリオシドーシス I I 型、サンドホフ病、G M 2 - ガングリオシドーシス、 - マンノシドーシス I 型 / I I 型、 - マンノシドーシス、異染色性白質ジストロフィ (m e t a c h r o m a t i c l e u c o d y s t r o p h y)、ムコリピドーシス I 型、シアリドーシス I 型 / I I 型ムコリピドーシス I I 型 / I I I 型 I 細胞病、ムコリピドーシス I I I C 型偽性ハーラーポリジストロフィ、ムコ多糖体沈着症 I I I A 型、サンフィリップ症候群、ムコ多糖体沈着症 I I I B 型、ムコ多糖体沈着症 I I I C 型、ムコ多糖体沈着症 I I I D 型、ムコ多糖体沈着症 I V A 型、モルキオ症候群、ムコ多糖体沈着症 I V B 型、ムコ多糖体沈着症 V I 型、ムコ多糖体沈着症 V I I 型、スライ症候群、ムコ多糖体沈着症 I X 型、多発性スルファターゼ欠損症、神経セロイドリボフスチノーシス、C L N 1 バッテン病、ニーマン・ピック病 N B 型、ニーマン・ピック病、ニーマン・ピック病 C 1 型、ニーマン・ピック病 C 2 型、濃化異骨症、シンドラ病 I 型 / I I 型、シンドラ病、およびシアル酸蓄積症から選択される、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記 L S D がムコ多糖体沈着症 I I 型 (ハンター症候群) であり、前記実質的に脱リン酸化された L S D タンパク質がヒトイズロン酸 - 2 - スルファターゼである、項目 3 7 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記 L S D がムコ多糖体沈着症 I 型 (ハーラー症候群) であり、前記実質的に脱リン酸化された L S D タンパク質がヒト L - イズロニダーゼである、項目 3 7 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記 L S D が中枢神経系 (C N S) 合併症を有するか、前記被験体が前記 L S D の C N S 合併症を発症するリスクがある、項目 3 6 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 1)

実質的に脱リン酸化されたヒトイズロン酸 - 2 - スルファターゼ (I D S) を産生する方法であって、ヒト細胞株中で前記ヒト I D S を組換え的に産生する工程、組換え的に産生された前記ヒト I D S を、同一のヒト細胞株中で産生された非処理ヒト I D S と比較して前記ヒト I D S のマンノース - 6 - リン酸 (M 6 P) 含有量が少なくとも約 5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、または 9 9 % 減少するのに十分な時間ホスファターゼで処理する工程を含む、方法。

(項目 4 2)

前記ヒト細胞株が H T - 1 0 8 0 線維肉腫細胞株である、項目 4 1 に記載の方法。

(項目 4 3)

前記 I D S が、配列番号 2 のアミノ酸配列を含むか、配列番号 2 のアミノ酸配列からな

る、項目 4 1 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記ホスファターゼが仔牛腸アルカリホスファターゼ (C I P) である、項目 4 1 に記載の方法。

(項目 4 5)

前記 C I P がアクリルビーズに結合している、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 4 6)

前記ヒト I D S をヒト p 9 7 配列に融合する、項目 4 1 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 7)

前記 I D S をヒト p 9 7 ポリペプチドに結合体化する工程をさらに含む、項目 4 1 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 8)

単離ヒトイズロン酸 - 2 - スルファターゼ (I D S) ポリペプチドであって、前記ヒト I D S ポリペプチドが配列番号 2 のアミノ酸配列またはその改変体を含むか配列番号 2 のアミノ酸配列またはその改変体からなり、マンノース - 6 - リン酸 (M 6 P) 含有量が約 $1.2 \text{ pmol M6P / pmol IDS}$ タンパク質未満である、単離ヒトイズロン酸 - 2 - スルファターゼ (I D S) ポリペプチド。

(項目 4 9)

前記 M 6 P 含有量が約 $0.5 \text{ pmol M6P / pmol IDS}$ タンパク質未満である、項目 4 8 に記載の単離ポリペプチド。

(項目 5 0)

前記 M 6 P 含有量が約 $0.15 \text{ pmol M6P / pmol IDS}$ タンパク質または約 $0.15 \text{ pmol M6P / pmol IDS}$ タンパク質未満である、項目 4 8 に記載の単離ポリペプチド。