

【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27年11月26日(2015.11.26)

【公表番号】特表2014-531910(P2014-531910A)

【公表日】平成26年12月4日(2014.12.4)

【年通号数】公開・登録公報2014-066

【出願番号】特願2014-536237(P2014-536237)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 07 K 14/755 (2006.01)

A 61 P 7/04 (2006.01)

A 61 K 38/43 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 07 K 14/755

A 61 P 7/04

A 61 K 37/465

【手続補正書】

【提出日】平成27年10月5日(2015.10.5)

【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】

精製、凍結乾燥及び再構成の後の第VIII因子分子の安定性を増大させるための方法であって、第VIII因子分子の製造全体を通して、本質的にA1ドメイン及びA2ドメインを含む第一のフラグメント並びに本質的にA3ドメイン、C1ドメイン及びC2ドメインを含む第二のフラグメントへの第VIII因子分子のタンパク質分解切断を防止することを含む、上記方法。

【請求項2】

Arg1648とGlu1649との間のタンパク質分解切断部位、及びFVIII分子中に存在する場合はArg1313とAla1314との間のタンパク質分解切断部位を不活化することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

不活化工程が、少なくともArg1648を第VIII因子配列から除去することを含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

不活化工程が、少なくともArg1313～Arg1648のアミノ酸配列を第VIII因子配列から除去することを含む、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

第VIII因子配列の位置741～1647におけるアミノ酸から選択される第一のアミノ酸が、第VIII因子配列の位置1649～1690におけるアミノ酸から選択される第二のアミノ酸と融合され、それによりArg1648とGlu1649との間のタンパク質分解切断部位、及びFVIII分子中に存在する場合はArg1313とAla1314との間のタンパク質分解切断部位が不活化される、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 6】

請求項 5 に記載の方法であって、ここで

- アミノ酸 740 がアミノ酸 1650 に融合され、それによりアミノ酸 741 ~ 1649 が除去される；
- アミノ酸 740 がアミノ酸 1690 に融合され、それによりアミノ酸 741 ~ 1689 が除去される；
- アミノ酸 740 がアミノ酸 1669 に融合され、それによりアミノ酸 741 ~ 1668 が除去される；
- アミノ酸 743 がアミノ酸 1650 に融合され、それによりアミノ酸 744 ~ 1649 が除去される；
- アミノ酸 764 がアミノ酸 1650 に融合され、それによりアミノ酸 765 ~ 1649 が除去される；
- アミノ酸 764 がアミノ酸 1653 に融合され、それによりアミノ酸 765 ~ 1652 が除去される；
- アミノ酸 764 がアミノ酸 1656 に融合され、それによりアミノ酸 765 ~ 1655 が除去される；
- アミノ酸 745 がアミノ酸 1650 に融合され、それによりアミノ酸 746 ~ 1649 が除去される；
- アミノ酸 745 がアミノ酸 1653 に融合され、それによりアミノ酸 746 ~ 1652 が除去される；
- アミノ酸 745 がアミノ酸 1656 に融合され、それによりアミノ酸 746 ~ 1655 が除去される；
- アミノ酸 757 がアミノ酸 1650 に融合され、それによりアミノ酸 758 ~ 1649 が除去される；
- アミノ酸 757 がアミノ酸 1653 に融合され、それによりアミノ酸 758 ~ 1652 が除去される；
- アミノ酸 757 がアミノ酸 1656 に融合され、それによりアミノ酸 758 ~ 1655 が除去される；
- アミノ酸 793 がアミノ酸 1649 に融合され、それによりアミノ酸 794 ~ 1648 が除去される；
- アミノ酸 793 がアミノ酸 1690 に融合され、それによりアミノ酸 794 ~ 1689 が除去される；
- アミノ酸 747 がアミノ酸 1649 に融合され、それによりアミノ酸 748 ~ 1648 が除去される；
- アミノ酸 751 がアミノ酸 1649 に融合され、それによりアミノ酸 752 ~ 1648 が除去される；
- アミノ酸 776 がアミノ酸 1649 に融合され、それによりアミノ酸 777 ~ 1648 が除去される；又は
- アミノ酸 770 がアミノ酸 1667 に融合され、それによりアミノ酸 771 ~ 1666 が除去される、

上記方法。

【請求項 7】

除去されたアミノ酸が、1 ~ 50 アミノ酸長を有するペプチドスペーサーで置き換えられる、請求項 3 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

不活化工程が、Arg 1648、及び第VIII因子分子中に存在する場合はArg 1313 を異なるアミノ酸と置き換えることを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 9】

水溶液での再構成及び 7 日間 25 °C での貯蔵後の、第VIII因子分子の活性の損失が 15 % 未満である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

水溶液での再構成後の第VIII因子のインビトロ安定性が、前記切断部位の不活化により増大する、請求項2～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 11】

同じ用量及び同じ方法で投与された、ヒト野生型第VIII因子と比較して、又はAsn745がPro1640に融合されているBドメイン欠失ヒト第VIII因子分子と比較して、第VIII因子が非静脈内注射後に改善されたバイオアベイラビリティを示し；好ましくは非静脈内注射後のバイオアベイラビリティが、同じ用量及び同じ方法で投与された、ヒト野生型第VIII因子と比較して、又はAsn745がPro1640に融合されているBドメイン欠失ヒト第VIII因子分子と比較して、少なくとも25%増加する、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 12】

前記非静脈内注射が、皮下、経皮又は筋内注射である、請求項11に記載の方法。

【請求項 13】

(i) 第VIII因子が、ヒト野生型第VIII因子と比較して、静脈内投与後に改善された血漿半減期を示し；好ましくは該血漿半減期は、ヒト野生型第VIII因子と比較して少なくとも40%改善され、

又は

(ii) 第VIII因子が、血友病Aマウスにおいて経時的にトロンビン生成アッセイにおいて決定された場合に、ヒト野生型第VIII因子と比較して、トロンビンピークレベルが静脈内投与後に50nMを下回るまでにより長い期間を示し；好ましくは、この期間はヒト野生型第VIII因子と比較して少なくとも10時間延長され、

又は

(iii) 第VIII因子が、一段階FVIII:Cアッセイにより決定された場合に、ヒト血漿中で37にて4日間インキュベートされた後のヒト野生型第VIII因子と比較して、ヒト血漿中で37にて4日間インキュベートされた後により高い活性を保持し；好ましくは、第VIII因子の保持された活性は、ヒト血漿中で37にて4日間インキュベートされた後のヒト野生型第VIII因子の活性と比較して少なくとも10%高い、

請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 14】

(i) Arg1648とGlu1649との間のタンパク質分解切断部位、及びArg1313とAla1314との間のタンパク質分解切断部位が不活化されている改変第VIII因子分子をコードする核酸を提供する工程、

(ii) 宿主細胞を該核酸で形質転換する工程、

(iii) 形質転換された宿主細胞を、改変第VIII因子分子が発現されるような条件下培養する工程、

(iv) 宿主細胞から、又は細胞培養培地から、改変第VIII因子分子を回収する工程

を含む、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 15】

出血性障害、好ましくは血友病Aの処置又は予防における使用のための、単鎖第VIII因子分子を含む医薬製剤であって、該処置又は予防が、

(i) 非静脈内投与、[ここで

該単鎖第VIII因子分子のバイオアベイラビリティは、同じ用量及び同じ方法で投与される、ヒト野生型第VIII因子と比較して、又はAsn745がPro1640に融合されているBドメイン欠失ヒト第VIII因子分子と比較して、少なくとも25%増加する]

又は

(ii) 静脈内投与、[ここで

(a) 該単鎖第VIII因子分子の静脈内投与後の血漿半減期は、同じ用量及び同じ方法で投与されたヒト野生型第VIII因子と比較して少なくとも40%増加するか、又は

(b) 単鎖第VIII因子分子は、血友病Aマウスにおいて経時的にトロンビン生成アッセイにおいて決定されたトロンビンピークレベルが、同じ用量及び同じ方法で投与されたヒト野生型第VIII因子と比較して静脈内投与後に50nMを下回るまでに、少なくとも10時間延長された期間を示す】

によるものである、上記医薬製剤。

【請求項16】

出血性障害、好ましくは血友病Aの処置又は予防における使用のための、単鎖第VIII因子分子を含む医薬製剤であって、ここで単鎖第VIII因子分子は、ヒト血漿中で37にて4日間インキュベートされた後のヒト野生型第VIII因子と比較して、ヒト血漿中で37にて4日間インキュベートされた後に、一段階FVIII:Cアッセイにより決定された場合に少なくとも10%高い活性を保持する、上記医薬製剤。

【請求項17】

非静脈内投与による、出血性障害、好ましくは血友病Aの処置又は予防における使用のための、単鎖第VIII因子分子を含む医薬液剤であって、ここで同じ用量及び同じ方法で投与された、Asn745がPro1640に融合されているBドメイン欠失第VIII因子分子の用量と比較して、血液における同じ止血活性を達成するために、該FVIII分子の用量は少なくとも25%減少され得る、上記医薬液剤。