

【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 29 年 2 月 16 日 (2017.2.16)

【公表番号】特表 2016-504040 (P2016-504040A)

【公表日】平成 28 年 2 月 12 日 (2016.2.12)

【年通号数】公開・登録公報 2016-010

【出願番号】特願 2015-551870 (P2015-551870)

【国際特許分類】

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 9/16 Z N A Z

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 25/00

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 29 年 1 月 6 日 (2017.1.6)

【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】

組換えアリアルスルファターゼ A (A S A) タンパク質を精製する方法であって、
 1 つ以上のクロマトグラフィーステップを行うことにより不純調製物から組換えアリアルスルファターゼ A (A S A) タンパク質を精製することと、
 前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップからの溶出物をプールすることと、
 前記プールした溶出物の pH を 6 . 0 以上の pH に調整することと、
 前記 pH を調整した溶出物を限外濾過および / または透析濾過に供することと、を含む、方法。

【請求項 2】

前記 pH が、6 . 0 に調整される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 pH が、pH 7 . 0 を有するリン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、およびクエン酸ナトリウムを含む緩衝液を用いて調整される、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記緩衝液が、pH 7 . 0 を有する 0 . 1 ~ 0 . 5 M のリン酸ナトリウム、0 . 5 ~ 2 . 5 M の塩化ナトリウム、および 0 . 1 ~ 0 . 6 M のクエン酸ナトリウムを含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

ウイルス濾過が、限外濾過および透析濾過の前記ステップ前に行われる、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

限外濾過および／または透析濾過の単一ステップが行われる、請求項１～５のいずれかに記載の方法。

【請求項７】

限外濾過および／または透析濾過の前記単一ステップが、１つの透析濾過のみを含む、請求項５に記載の方法。

【請求項８】

前記限外濾過が、接線流限外濾過である、請求項１～７のいずれかに記載の方法。

【請求項９】

前記１つ以上のクロマトグラフィーステップが、陽イオン交換クロマトグラフィーを含む、請求項１～８のいずれかに記載の方法。

【請求項１０】

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、最後のクロマトグラフィーステップであり、前記陽イオン交換クロマトグラフィーからの溶出物が、前記ｐＨを調整する前にプールされる、請求項９に記載の方法。

【請求項１１】

陰イオン交換クロマトグラフィー、混合モードクロマトグラフィー、および疎水性相互作用クロマトグラフィーのうちの１つ以上が、前記陽イオン交換クロマトグラフィーを行う前に行われる、請求項１０に記載の方法。

【請求項１２】

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、Ｑクロマトグラフィーである、請求項１１に記載の方法。

【請求項１３】

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、ＴＭＡＥ樹脂を含む、請求項１１に記載の方法。

【請求項１４】

前記ＴＭＡＥ樹脂が、一旦前記不純調製物で負荷されると、ｐＨ７．０を有するＭＥＳ－Ｔｒｉｓを含む第１の洗浄緩衝液を用いて洗浄される、請求項１３に記載の方法。

【請求項１５】

前記第１の洗浄緩衝液が、２０～７５ｍＭのＭＥＳ－Ｔｒｉｓを含む、請求項１４に記載の方法。

【請求項１６】

前記ＴＭＡＥ樹脂が、ｐＨ７．０を有するＭＥＳ－ＴｒｉｓおよびＮａＣｌを含む第２の洗浄緩衝液を用いて洗浄される、請求項１３～１５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１７】

前記第２の洗浄緩衝液が、ｐＨ７．０を有する５～７５ｍＭのＭＥＳ－Ｔｒｉｓおよび５０～１５０ｍＭのＮａＣｌを含む、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】

前記ＴＭＡＥ樹脂が、一旦前記不純調製物で負荷されると、ｐＨ７．０を有するＭＥＳ－ＴｒｉｓおよびＮａＣｌを含む溶出緩衝液を用いて溶出される、請求項１３～１７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１９】

前記溶出緩衝液が、ｐＨ７．０を有する５～７５ｍＭのＭＥＳ－Ｔｒｉｓおよび１５０～３００ｍＭのＮａＣｌを含む、請求項１８に記載の方法。

【請求項２０】

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、Ｑ Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ（商標）Ｆａｓｔ Ｆｌｏｗ、Ｑ Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ（商標）Ｈｉｇｈ Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ、Ｑ Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ（商標）ＸＬ、Ｃａｐｔｏ（商標）Ｑ、ＤＥＡＥ、ＴＯＹＯＰＥＡＲＬ ＧｉｇａＣａｐ（登録商標）Ｑ、Ｆｒａｃｔｏｇｅｌ（登録商標）ＴＭＡＥ、Ｅｓｈｍｕｎｏ（商標）Ｑ、Ｎｕｖｉａ（商標）Ｑ、またはＵＮＯｓｐｈｅｒｅ（商標）Ｑからなる群から選択されるカラムを使用する、請求項１１に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記混合モードクロマトグラフィーが、ヒドロキシアパタイト（H A）クロマトグラフィーである、請求項 1 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、フェニルクロマトグラフィーである、請求項 1 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

1 つ以上のクロマトグラフィーステップを行うことが、T M A E 樹脂を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー、H A クロマトグラフィー、フェニルクロマトグラフィー、および陽イオン交換 S P クロマトグラフィーを、その順で行うことを含む、請求項 9 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、4 . 5 g / L 超の負荷容量を有するカラムを用いることを含む、請求項 1 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記カラムの前記負荷容量が、5 ~ 2 0 g / L である、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記不純調製物の限外濾過が、前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップ前に行われる、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記限外濾過が、接線流限外濾過である、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

限外濾過が、少なくとも 1 0 k D A の分子量カットオフを有する細孔径を含む膜フィルターを使用する、請求項 2 6 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

限外濾過が、少なくとも 3 0 k D A の分子量カットオフを有する細孔径を含む膜フィルターを使用する、請求項 2 6 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 0】

限外濾過が、少なくとも 5 0 k D A の分子量カットオフを有する細孔径を含む膜フィルターを使用する、請求項 2 6 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記組換え A S A の少なくとも 7 5 % が、前記不純調製物中に保持される、請求項 2 6 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記組換え A S A の少なくとも 7 5 % が、前記フィルターを透過する、請求項 2 6 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 3】

限外濾過が、ポリエーテルスルホンまたはセルロース膜を含む、請求項 2 6 または 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記限外濾過に続いて、深層濾過および / またはウイルス不活性化の 1 つ以上のステップが行われる、請求項 2 6 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

深層濾過および / またはウイルス不活性化の前記 1 つ以上のステップに続いて、前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップが行われる、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

ウイルス不活性化の前記ステップが、洗剤を前記不純調製物に添加することを含む、請求項 3 4 または 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記組換え A S A タンパク質が、懸濁液中で培養された哺乳動物細胞により生成される

、請求項 1 ～ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記哺乳動物細胞が、バイオリアクター中で培養される、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記培地が、無血清である、請求項 3 7 または 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記無血清培地が、既知組成培地である、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記哺乳動物細胞が、ヒト細胞である、請求項 3 7 ～ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記不純調製物が、灌流バイオリアクターからの供給流である、請求項 1 ～ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記不純調製物が、前記哺乳動物細胞から分泌された組換え A S A タンパク質を含有する前記無血清培地から調製される、請求項 1 ～ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記不純調製物が、冷凍培地の調製物から解凍される、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

限外濾過および / または透析濾過の前記ステップが、前記精製された組換え A S A タンパク質を製剤緩衝液に交換することを含む、請求項 1 ～ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記組換え A S A タンパク質が、配列番号 1 (野生型ヒト A S A タンパク質に対応する) と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列を有する、請求項 1 ～ 4 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記組換え A S A タンパク質が、配列番号 1 と同一のアミノ酸配列を有する、請求項 1 ～ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記精製された組換え A S A タンパク質が 1 0 0 n g / m g 未満の H C P を含有する、請求項 1 ～ 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記精製された組換え A S A タンパク質が 6 0 n g / m g 未満の H C P を含有する、請求項 1 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記精製された組換え A S A タンパク質が、クマシーブルー染色を用いて S D S - P A G E に供するとき、1 . 0 % のアッセイ対照を超える強度を有する新しいバンドを有しない、請求項 1 ～ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記精製された組換え A S A タンパク質が、1 0 0 p g / m g 未満の宿主細胞 D N A を含有する、請求項 1 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記精製された組換え A S A タンパク質が、5 0 p g / m g 未満の宿主細胞 D N A を含有する、請求項 1 ～ 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 3】

組換えアリールスルファターゼ A (A S A) タンパク質を精製する方法であって、

1 つ以上のクロマトグラフィーステップを行うことにより不純調製物から組換えアリールスルファターゼ A (A S A) タンパク質を精製することであり、前記第 1 のクロマトグラフィーステップが 4 . 5 g 以上のタンパク質 / L 樹脂の負荷容量を有するカラムを使

用する、精製することと、

前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップからの溶出物をプールすることと、

前記プールした溶出物の pH を 6 . 0 以上の pH に調整することと、

前記 pH を調整した溶出物を限外濾過および / または透析濾過に供することと、を含む、方法。

【請求項 5 4】

1 つ以上のクロマトグラフィーステップを行う前記ステップが、陰イオン交換クロマトグラフィー、混合モードクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、および陽イオン交換クロマトグラフィーを、その順で行うことを含む、請求項 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、TMAE 樹脂を含むカラムを使用する、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記 TMAE カラムが、5 ~ 20 g タンパク質 / L 樹脂の負荷容量を有する、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

限外濾過および / または透析濾過の単一ステップが、前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップ後に行われる、請求項 5 3 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 8】

請求項 1 ~ 5 7 のいずれか一項に記載の方法により精製された組換えアリールスルファターゼ A (ASA) タンパク質。

【請求項 5 9】

請求項 5 8 に記載の組換え ASA タンパク質を含む、薬学的組成物。

【請求項 6 0】

治療を必要とする対象において異染性白質萎縮症を治療するための、請求項 5 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 6 1】

配列番号 1 と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列を有する精製された組換えアリールスルファターゼ A (ASA) を含む組成物であって、

前記精製された組換え ASA が、少なくとも 5 0 U / mg の比活性を有し、

さらに、前記精製された組換え ASA が、150 ng / mg 未満の宿主細胞タンパク質 (HCP) および / または 150 pg / mg 未満の宿主細胞 DNA (HCD) を含有する、組成物。

【請求項 6 2】

前記精製された組換え ASA が、100 ng / mg 未満の HCP を含有する、請求項 6 1 に記載の組成物。

【請求項 6 3】

前記精製された組換え ASA が、60 ng / mg 未満の HCP を含有する、請求項 6 1 または 6 2 に記載の組成物。

【請求項 6 4】

前記精製された組換え ASA が、100 pg / mg 未満の HCD を含有する、請求項 6 1 ~ 6 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 5】

前記精製された組換え ASA が、50 pg / mg 未満の HCD を含有する、請求項 6 1 ~ 6 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 6】

前記精製された組換え ASA が、少なくとも 7 0 U / mg の比活性を有する、請求項 6 1 ~ 6 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 7】

前記精製された組換え A S A が、少なくとも 1 0 0 U / m g の比活性を有する、請求項 6 1 ~ 6 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 8】

前記精製された組換え A S A が、少なくとも 1 2 0 U / m g の比活性を有する、請求項 6 1 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 9】

前記精製された組換え A S A が、5 0 ~ 2 0 0 U / m g の範囲の比活性を有する、請求項 6 1 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 0】

前記精製された組換え A S A が、5 0 ~ 1 4 0 U / m g の範囲の比活性を有する、請求項 6 1 ~ 6 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 1】

配列番号 1 と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列を有する精製された組換えアリールスルファターゼ A (A S A) を含む組成物であって、

前記精製された A S A が、中性 (ピーク群 1)、モノシアル化 (ピーク群 2)、キャップされたマンノース - 6 - リン酸化 (ピーク群 3)、ジシアル化 (ピーク群 4)、モノ - マンノース - 6 - リン酸化 (ピーク群 5)、ハイブリッド (ピーク群 6)、およびジ - マンノース - 6 - リン酸化 (ピーク群 7) を示すピーク群から選択される 7 つ以下のピーク群を含むグリカンマップで特徴付けられる、組成物。

【請求項 7 2】

前記精製された組換え A S A が、配列番号 1 と少なくとも 8 0 % 同一のアミノ酸配列を有する、請求項 7 1 に記載の組成物。

【請求項 7 3】

前記精製された組換え A S A が、配列番号 1 と少なくとも 9 0 % 同一のアミノ酸配列を有する、請求項 7 1 または 7 2 に記載の組成物。

【請求項 7 4】

前記精製された組換え A S A が、配列番号 1 と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を有する、請求項 7 1 ~ 7 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 5】

前記精製された組換え A S A が、配列番号 1 と同一のアミノ酸配列を有する、請求項 7 1 ~ 7 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 6】

請求項 7 1 ~ 7 5 のいずれか一項に記載の組成物および生理学的に許容される担体を含む、製剤。

【請求項 7 7】

前記製剤が、静脈内投与に適している、請求項 7 6 に記載の製剤。

【請求項 7 8】

前記製剤が、髄腔内投与に適している、請求項 7 6 に記載の製剤。

【請求項 7 9】

前記製剤が、皮下投与に適している、請求項 7 6 に記載の製剤。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 4 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 4 7】

本発明の他の特性、目的、および利点は、以下の詳細な説明において明白になる。しかしながら、この詳細な説明は、本発明の実施形態を示しているが、限定ではなく例示としてのみ提供されるものであることを理解されるべきである。本発明の範囲内の様々な変更および修正は、詳細な説明から当業者には明らかになるであろう。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

組換えアリアルスルファターゼ A (ASA) タンパク質を精製する方法であって、
1 つ以上のクロマトグラフィーステップを行うことにより不純調製物から組換えアリアルスルファターゼ A (ASA) タンパク質を精製することと、
前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップからの溶出物をプールすることと、
前記プールした溶出物の pH を約 6.0 以上の pH に調整することと、
前記 pH を調整した溶出物を限外濾過および / または透析濾過に供することと、を含む、方法。

(項目 2)

前記 pH が、約 6.0 に調整される、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記 pH が、pH 7.0 を有するリン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、およびクエン酸ナトリウムを含む緩衝液を用いて調整される、項目 1 または 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記緩衝液が、pH 7.0 を有する約 0.1 ~ 0.5 M のリン酸ナトリウム、0.5 ~ 2.5 M の塩化ナトリウム、および 0.1 ~ 0.6 M のクエン酸ナトリウムを含む、項目 3 に記載の方法。

(項目 5)

ウイルス濾過が、限外濾過および透析濾過の前記ステップ前に行われる、項目 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

(項目 6)

限外濾過および / または透析濾過の単一ステップが行われる、項目 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

(項目 7)

限外濾過および / または透析濾過の前記単一ステップが、1 つの透析濾過のみを含む、項目 5 に記載の方法。

(項目 8)

前記限外濾過が、接線流限外濾過である、項目 1 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

(項目 9)

前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップが、陽イオン交換クロマトグラフィーを含む、項目 1 ~ 8 のいずれかに記載の方法。

(項目 10)

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、最後のクロマトグラフィーステップであり、前記陽イオン交換クロマトグラフィーからの溶出物が、前記 pH を調整する前にプールされる、項目 9 に記載の方法。

(項目 11)

陰イオン交換クロマトグラフィー、混合モードクロマトグラフィー、および疎水性相互作用クロマトグラフィーのうちの 1 つ以上が、前記陽イオン交換クロマトグラフィーを行う前に行われる、項目 10 に記載の方法。

(項目 12)

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、Q クロマトグラフィーである、項目 11 に記載の方法。

(項目 13)

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、TMAE 樹脂を含む、項目 11 に記載の方法。

(項目 14)

前記 TMAE 樹脂が、一旦前記不純調製物で負荷されると、pH 7.0 を有する MES - Tris を含む第 1 の洗浄緩衝液を用いて洗浄される、項目 13 に記載の方法。

(項目 15)

前記第1の洗浄緩衝液が、約20～75 mMのMES - Trisを含む、項目14に記載の方法。

(項目16)

前記TMAE樹脂が、pH7.0を有するMES - TrisおよびNaClを含む第2の洗浄緩衝液を用いて洗浄される、項目13～15のいずれか一項に記載の方法。

(項目17)

前記第2の洗浄緩衝液が、pH7.0を有する約5～75 mMのMES - Trisおよび約50～150 mMのNaClを含む、項目16に記載の方法。

(項目18)

前記TMAE樹脂が、一旦前記不純調製物で負荷されると、pH7.0を有するMES - TrisおよびNaClを含む溶出緩衝液を用いて溶出される、項目13～17のいずれか一項に記載の方法。

(項目19)

前記溶出緩衝液が、pH7.0を有する約5～75 mMのMES - Trisおよび約150～300 mMのNaClを含む、項目18に記載の方法。

(項目20)

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、Q Sepharose (商標) Fast Flow、Q Sepharose (商標) High Performance、Q Sepharose (商標) XL、Capto (商標) Q、DEAE、TOYOPEARL GigaCap (登録商標) Q、Fractogel (登録商標) TMAE、Eshmun (商標) Q、Nuvia (商標) Q、またはUNOsphere (商標) Qからなる群から選択されるカラムを使用する、項目11に記載の方法。

(項目21)

前記混合モードクロマトグラフィーが、ヒドロキシアパタイト(HA)クロマトグラフィーである、項目11～20のいずれか一項に記載の方法。

(項目22)

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、フェニルクロマトグラフィーである、項目11～21のいずれか一項に記載の方法。

(項目23)

1つ以上のクロマトグラフィーステップを行うことが、TMAE樹脂を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー、HAクロマトグラフィー、フェニルクロマトグラフィー、および陽イオン交換SPクロマトグラフィーを、その順で行うことを含む、項目9～22のいずれか一項に記載の方法。

(項目24)

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、約4.5 g/L超の負荷容量を有するカラムを用いることを含む、項目9～23のいずれか一項に記載の方法。

(項目25)

前記カラムの前記負荷容量が、約5～20 g/Lである、項目24に記載の方法。

(項目26)

前記不純調製物の限外濾過が、前記1つ以上のクロマトグラフィーステップ前に行われる、項目1～25のいずれか一項に記載の方法。

(項目27)

前記限外濾過が、接線流限外濾過である、項目26に記載の方法。

(項目28)

限外濾過が、少なくとも10 kDaの分子量カットオフを有する細孔径を含む膜フィルターを使用する、項目26または27に記載の方法。

(項目29)

限外濾過が、少なくとも30 kDaの分子量カットオフを有する細孔径を含む膜フィルターを使用する、項目26または27に記載の方法。

(項目30)

限外濾過が、少なくとも 50 kD A の分子量カットオフを有する細孔径を含む膜フィルターを使用する、項目 26 または 27 に記載の方法。

(項目 31)

前記組換え A S A の少なくとも 75 % が、前記不純調製物中に保持される、項目 26 または 27 に記載の方法。

(項目 32)

前記組換え A S A の少なくとも 75 % が、前記フィルターを透過する、項目 26 または 27 に記載の方法。

(項目 33)

限外濾過が、ポリエーテルスルホンまたはセルロース膜を含む、項目 26 または 27 に記載の方法。

(項目 34)

前記限外濾過に続いて、深層濾過および / またはウイルス不活性化の 1 つ以上のステップが行われる、項目 26 ~ 33 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 35)

深層濾過および / またはウイルス不活性化の前記 1 つ以上のステップに続いて、前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップが行われる、項目 34 に記載の方法。

(項目 36)

ウイルス不活性化の前記ステップが、洗剤を前記不純調製物に添加することを含む、項目 34 または 35 に記載の方法。

(項目 37)

前記組換え A S A タンパク質が、懸濁液中で培養された哺乳動物細胞により生成される、項目 1 ~ 36 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 38)

前記哺乳動物細胞が、バイオリアクター中で培養される、項目 37 に記載の方法。

(項目 39)

前記培地が、無血清である、項目 37 または 38 に記載の方法。

(項目 40)

前記無血清培地が、既知組成培地である、項目 39 に記載の方法。

(項目 41)

前記哺乳動物細胞が、ヒト細胞である、項目 37 ~ 40 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 42)

前記不純調製物が、灌流バイオリアクターからの供給流である、項目 1 ~ 41 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 43)

前記不純調製物が、前記哺乳動物細胞から分泌された組換え A S A タンパク質を含有する前記無血清培地から調製される、項目 1 ~ 41 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 44)

前記不純調製物が、冷凍培地の調製物から解凍される、項目 43 に記載の方法。

(項目 45)

限外濾過および / または透析濾過の前記ステップが、前記精製された組換え A S A タンパク質を製剤緩衝液に交換することを含む、項目 1 ~ 44 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 46)

前記組換え A S A タンパク質が、配列番号 1 (野生型ヒト A S A タンパク質に対応する) と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列を有する、項目 1 ~ 45 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 47)

前記組換え A S A タンパク質が、配列番号 1 と同一のアミノ酸配列を有する、項目 1 ~ 46 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 48)

前記精製された組換え A S A タンパク質が 1 0 0 n g / m g 未満の H C P を含有する、項目 1 ～ 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 9)

前記精製された組換え A S A タンパク質が 6 0 n g / m g 未満の H C P を含有する、項目 1 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 0)

前記精製された組換え A S A タンパク質が、クマシーブルー染色を用いて S D S - P A G E に供するとき、1 . 0 % のアッセイ対照を超える強度を有する新しいバンドを有しない、項目 1 ～ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 1)

前記精製された組換え A S A タンパク質が、1 0 0 p g / m g 未満の宿主細胞 D N A を含有する、項目 1 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 2)

前記精製された組換え A S A タンパク質が、5 0 p g / m g 未満の宿主細胞 D N A を含有する、項目 1 ～ 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 3)

組換えアリールスルファターゼ A (A S A) タンパク質を精製する方法であって、1 つ以上のクロマトグラフィーステップを行うことにより不純調製物から組換えアリールスルファターゼ A (A S A) タンパク質を精製することであり、前記第 1 のクロマトグラフィーステップが約 4 . 5 g 以上のタンパク質 / L 樹脂の負荷容量を有するカラムを使用する、精製することと、

前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップからの溶出物をプールすることと、

前記プールした溶出物の p H を約 6 . 0 以上の p H に調整することと、

前記 p H を調整した溶出物を限外濾過および / または透析濾過に供することと、を含む、方法。

(項目 5 4)

1 つ以上のクロマトグラフィーステップを行う前記ステップが、陰イオン交換クロマトグラフィー、混合モードクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、および陽イオン交換クロマトグラフィーを、その順で行うことを含む、項目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 5)

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、T M A E 樹脂を含むカラムを使用する、項目 5 4 に記載の方法。

(項目 5 6)

前記 T M A E カラムが、約 5 ～ 2 0 g タンパク質 / L 樹脂の負荷容量を有する、項目 5 5 に記載の方法。

(項目 5 7)

限外濾過および / または透析濾過の単一ステップが、前記 1 つ以上のクロマトグラフィーステップ後に行われる、項目 5 3 ～ 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 8)

項目 1 ～ 5 7 のいずれか一項に記載の方法により精製された組換えアリールスルファターゼ A (A S A) タンパク質。

(項目 5 9)

項目 5 8 に記載の組換え A S A タンパク質を含む、薬学的組成物。

(項目 6 0)

治療を必要とする対象に、項目 5 9 に記載の薬学的組成物を投与することを含む、異染性白質萎縮症を治療する方法。

(項目 6 1)

配列番号 1 と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列を有する精製された組換えアリールスルファターゼ A (A S A) を含む組成物であって、

前記精製された組換え A S A が、少なくとも約 50 U / mg の比活性を有し、

さらに、前記精製された組換え A S A が、150 ng / mg 未満の宿主細胞タンパク質 (HCP) および / または 150 pg / mg 未満の宿主細胞 DNA (HCD) を含有する、組成物。

(項目 62)

前記精製された組換え A S A が、100 ng / mg 未満の HCP を含有する、項目 61 に記載の組成物。

(項目 63)

前記精製された組換え A S A が、60 ng / mg 未満の HCP を含有する、項目 61 または 62 に記載の組成物。

(項目 64)

前記精製された組換え A S A が、100 pg / mg 未満の HCD を含有する、項目 61 ~ 63 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 65)

前記精製された組換え A S A が、50 pg / mg 未満の HCD を含有する、項目 61 ~ 64 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 66)

前記精製された組換え A S A が、少なくとも約 70 U / mg の比活性を有する、項目 61 ~ 65 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 67)

前記精製された組換え A S A が、少なくとも約 100 U / mg の比活性を有する、項目 61 ~ 66 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 68)

前記精製された組換え A S A が、少なくとも約 120 U / mg の比活性を有する、項目 61 ~ 67 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 69)

前記精製された組換え A S A が、約 50 ~ 200 U / mg の範囲の比活性を有する、項目 61 ~ 68 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 70)

前記精製された組換え A S A が、約 50 ~ 140 U / mg の範囲の比活性を有する、項目 61 ~ 69 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 71)

配列番号 1 と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列を有する精製された組換えアリールスルファターゼ A (A S A) を含む組成物であって、

前記精製された A S A が、中性 (ピーク群 1)、モノシアル化 (ピーク群 2)、キャップされたマンノース - 6 - リン酸化 (ピーク群 3)、ジシアル化 (ピーク群 4)、モノ - マンノース - 6 - リン酸化 (ピーク群 5)、ハイブリッド (ピーク群 6)、およびジ - マンノース - 6 - リン酸化 (ピーク群 7) を示すピーク群から選択される 7 つ以下のピーク群を含むグリカンマップで特徴付けられる、組成物。

(項目 72)

前記精製された組換え A S A が、配列番号 1 と少なくとも 80 % 同一のアミノ酸配列を有する、項目 71 に記載の組成物。

(項目 73)

前記精製された組換え A S A が、配列番号 1 と少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有する、項目 71 または 72 に記載の組成物。

(項目 74)

前記精製された組換え A S A が、配列番号 1 と少なくとも 95 % 同一のアミノ酸配列を有する、項目 71 ~ 73 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 75)

前記精製された組換え A S A が、配列番号 1 と同一のアミノ酸配列を有する、項目 71

～ 7 4 のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 7 6)

項目 7 1 ～ 7 5 のいずれか一項に記載の組成物および生理学的に許容される担体を含む、製剤。

(項目 7 7)

前記製剤が、静脈内投与に適している、項目 7 6 に記載の製剤。

(項目 7 8)

前記製剤が、髄腔内投与に適している、項目 7 6 に記載の製剤。

(項目 7 9)

前記製剤が、皮下投与に適している、項目 7 6 に記載の製剤。