

【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25年8月1日(2013.8.1)

【公開番号】特開2012-70758(P2012-70758A)

【公開日】平成24年4月12日(2012.4.12)

【年通号数】公開・登録公報2012-015

【出願番号】特願2011-285435(P2011-285435)

【国際特許分類】

C 12 N 9/52 (2006.01)

A 61 K 38/46 (2006.01)

【F I】

C 12 N 9/52

A 61 K 37/54

【手続補正書】

【提出日】平成25年6月18日(2013.6.18)

【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】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合のタンパク質純度が少なくとも95面積%であるヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項2】

色素リガンドアフィニティーコロマトグラフィーから浸出する物質を含まない、請求項1記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項3】

pH8の10mM Trisバッファーおよび60mMスクロース中にある場合、13,000～23,000 fSRC単位/mgのSRCアッセイ活性を有する、請求項1又は2記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項4】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合、2面積%未満の凝集タンパク質を含有する、請求項1～3のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項5】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合、1面積%未満のクロストリパインを含有する、請求項1～4のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項6】

アニオン交換クロマトグラフィーで測定した場合、1面積%未満のゼラチナーゼを含有する、請求項1～5のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項7】

1ug/mg(w/w)未満のロイペプチドを含有する、請求項1～6のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項8】

1cfu/ml未満の生物汚染度を有し、滅菌されている、請求項1～7のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項9】

10EU/ml未満の内毒素を含有する、請求項1～8のいずれかに記載のヒストリチクス菌

由来コラゲナーゼI。

【請求項 1 0】

5EU/mg未満の内毒素を含有する、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項 1 1】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合に少なくとも97面積%のタンパク質純度を有する、請求項 1 ~ 1 0 のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項 1 2】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合に少なくとも98面積%のタンパク質純度を有する、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼI。

【請求項 1 3】

ヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIの大量生産物であって、逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合の該コラゲナーゼIのタンパク質純度は、少なくとも95面積%であり、該コラゲナーゼIは、色素リガンドアフィニティークロマトグラフィーを用いる工程を含まない以下の工程：

- a) ヒストリチクス菌を発酵させる工程；
  - b) コラゲナーゼIを含む粗発酵物を回収する工程；ならびに
  - c) 濾過およびカラムクロマトグラフィーによって、粗回収物からコラゲナーゼIを、逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合に少なくとも95面積%のタンパク質純度まで精製する工程
- を含む方法により得られる、大量生産物。

【請求項 1 4】

- a) ヒストリチクス菌を発酵させる工程；
  - b) コラゲナーゼIを含む粗発酵物を回収する工程；ならびに
  - c) 濾過およびカラムクロマトグラフィーによって、粗回収物からコラゲナーゼIを、逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合に少なくとも95面積%のタンパク質純度まで精製する工程
- を含む、請求項 2 記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIの製造方法。

【請求項 1 5】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合のタンパク質純度が少なくとも95面積%であるヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項 1 6】

色素リガンドアフィニティークロマトグラフィーから浸出する物質を含まない、請求項 1 5 記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項 1 7】

pH8の10mM Trisバッファーおよび60mMスクロース中にある場合、200,000 ~ 380,000 fGP A単位/mgのGPAアッセイ活性を有する、請求項 1 5 又は 1 6 記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項 1 8】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合、2面積%未満の凝集タンパク質を含有する、請求項 1 5 ~ 1 7 のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項 1 9】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合、1面積%未満のクロストリパインを含有する、請求項 1 5 ~ 1 8 のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項 2 0】

アニオン交換クロマトグラフィーで測定した場合、1面積%未満のゼラチナーゼを含有する、請求項 1 5 ~ 1 9 のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項 2 1】

1ug/mg(w/w)未満のロイペプチドを含有する、請求項15～20のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項22】

1cfu/ml未満の生物汚染度を有し、滅菌されている、請求項15～21のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項23】

10EU/ml未満の内毒素を含有する、請求項15～22のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項24】

5EU/mg未満の内毒素を含有する、請求項15～23のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項25】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合に少なくとも97面積%のタンパク質純度を有する、請求項15～24のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項26】

逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合に少なくとも98面積%のタンパク質純度を有する、請求項15～25のいずれかに記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼII。

【請求項27】

ヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIIの大量生産物であって、逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合の該コラゲナーゼIIのタンパク質純度は、少なくとも95面積%であり、該コラゲナーゼIIは、色素リガンドアフィニティーコロマトグラフィーを用いる工程を含まない以下の工程：

- a) ヒストリチクス菌を発酵させる工程；
- b) コラゲナーゼIIを含む粗発酵物を回収する工程；ならびに
- c) 濾過およびカラムクロマトグラフィーによって、粗回収物からコラゲナーゼIIを、逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合に少なくとも95面積%のタンパク質純度まで精製する工程

を含む方法により得られる、大量生産物。

【請求項28】

- a) ヒストリチクス菌を発酵させる工程；
- b) コラゲナーゼIIを含む粗発酵物を回収する工程；ならびに
- c) 濾過およびカラムクロマトグラフィーによって、粗回収物からコラゲナーゼIIを、逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合に少なくとも95面積%のタンパク質純度まで精製する工程

を含む、請求項16記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIIの製造方法。

【請求項29】

請求項1記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIおよび請求項15記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIIからなり、コラゲナーゼIとコラゲナーゼIIが1：1の質量比を有する、大量生産物。

【請求項30】

請求項2記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIおよび請求項16記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIIからなり、該コラゲナーゼIとコラゲナーゼIIが1：1の質量比を有する、大量生産物。

【請求項31】

請求項1記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIおよび請求項15記載のヒストリチクス菌由来コラゲナーゼIIを含む製剤であって、コラゲナーゼIとコラゲナーゼIIが1対1の質量比を有し、逆相高性能液体クロマトグラフィーで測定した場合のコラゲナーゼIとコラゲナーゼIIのタンパク質純度が少なくとも95面積%であり、色素リガンドアフィニ

ティーコロマトグラフィーから浸出する物質を含まないものである、製剤。