

【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26年2月27日(2014.2.27)

【公表番号】特表2013-516991(P2013-516991A)

【公表日】平成25年5月16日(2013.5.16)

【年通号数】公開・登録公報2013-024

【出願番号】特願2012-549089(P2012-549089)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	9/14	(2006.01)
A 6 1 K	38/46	(2006.01)
A 6 1 P	7/02	(2006.01)
C 1 2 R	1/91	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	5/00	1 0 2
C 1 2 N	9/14	
A 6 1 K	37/54	
A 6 1 P	7/02	
C 1 2 N	9/14	
C 1 2 R	1:91	

【手続補正書】

【提出日】平成26年1月6日(2014.1.6)

【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】

EN-アピラ-ゼであって、

該EN-アピラ-ゼが、可溶性CD39L3もしくはそのホモログであり、均質なN末端を有し、該N末端はEVLPであり、かつ

(a) 該EN-アピラ-ゼが、3.0~4.5の範囲の平均等電点を有し；及び／又は

(b) 該EN-アピラ-ゼが、アピラ-ゼアッセイにより測定された、ウサギもしくはブタにおけるin vivo半減期が、HEK sol-CDE39L3-01の半減期の少なくとも2倍である、

EN-アピラ-ゼ。

【請求項2】

形質転換CHO細胞株により產生されたものである、請求項1に記載のEN-アピラ-ゼ。

【請求項3】

7番目の位置から開始する配列番号5からなるか、又はそのホモログである、請求項1に記載のEN-アピラ-ゼ。

【請求項4】

7番目の位置から開始する配列番号5からなる、請求項1に記載のEN-アピラ-ゼ。

【請求項5】

シグナル配列、リンカ - 、及び可溶性アピラ - ゼをコ - ドするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の E N - アピラ - ゼを製造するための核酸構築物であって、

該リンカ - がその C 末端として配列 E V L P を有し、かつ該リンカ - 又はその一部が天然の可溶性アピラ - ゼ中に存在する配列を表していてもよく、

かつ、N 末端に配列 E V L P を有する可溶性アピラ - ゼを生成可能なように、C H O 細胞内で機能するプロモ - タ - と作動可能に連結された、核酸構築物。

【請求項 6】

可溶性アピラ - ゼが可溶性 C D 3 9 L 3 又はそのホモログである、請求項 5 に記載の核酸構築物。

【請求項 7】

可溶性アピラ - ゼが 7 番目の位置から開始する配列番号 5 からなるか、又はそのホモログである、請求項 6 に記載の核酸構築物。

【請求項 8】

可溶性アピラ - ゼが 7 番目の位置から開始する配列番号 5 からなる、請求項 7 に記載の核酸構築物。

【請求項 9】

請求項 5 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の核酸構築物を含むように改変された C H O 細胞。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の細胞を培養し、その培養培地を回収することを含んでなる、E N - アピラ - ゼの調製方法。

【請求項 11】

培養の間、培地が約 1 . 5 ~ 4 m M のグルタミン濃度及び 7 . 0 ~ 7 . 8 の間の pH を維持し、かつ、培養 4 ~ 6 日目に培地の温度を 37 から 31 ~ 35 にシフトさせる、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

培養の間、培地が約 2 m M のグルタミン濃度及び 7 . 4 の pH を維持し、かつ、培養 5 日目に培地の温度を 37 から 34 にシフトさせる、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

請求項 10 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法により調製された E N - アピラ - ゼ。

【請求項 14】

請求項 1 ~ 4 及び請求項 13 のいずれか 1 項に記載の E N - アピラ - ゼを含有する医薬組成物。

【請求項 15】

炎症性免疫応答、血管損傷部位における免疫反応、又は不整脈の治療に用いるための、請求項 14 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

請求項 13 に記載の E N - アピラ - ゼを精製する方法であって、該 E N - アピラ - ゼを含む培養培地をアニオン交換クロマトグラフィ - に供した後、該アニオン交換クロマトグラフィ - からの E N - アピラ - ゼ含有溶出液をカチオン交換クロマトグラフィ - で精製することを含んでなる、方法。