

【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】

E N - アピラ - ゼであって、

該 E N - アピラ - ゼが、可溶性 C D 3 9 L 3 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 E V L P であり、かつ

(a) 該 E N - 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 E N - 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 i n v i v o 半減期が、H E K s o l - C D E 3 9 L 3 - 0 1 の半減期の少なくとも 2 倍である、

E N - アピラ - ゼ。

【請求項 2】

形質転換 C H O 細胞株により産生されたものである、請求項 1 に記載の E N - 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 E N - 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 E N - 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 - ゼをコー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ー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 p H を維持し、かつ、培養 4 ~ 6 日目に培地の温度を 3 7 から 3 1 ~ 3 5 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 p H を維持し、かつ、培養 5 日目に培地の温度を 3 7 から 3 4 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。