

【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4月17日 (2014.4.17)

【公表番号】特表2013-520986(P2013-520986A)

【公表日】平成25年6月10日 (2013.6.10)

【年通号数】公開・登録公報2013-029

【出願番号】特願2012-555542(P2012-555542)

【国際特許分類】

C 1 2 N 9/40 (2006.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 9/40

A 6 1 K 37/54

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 3/00

【手続補正書】

【提出日】平成26年2月28日 (2014.2.28)

【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】

連結成分を介して互いに共有結合で連結された少なくとも 2 つの - ガラクトシダーゼモノマーを含む多量体型タンパク質構造体であって、下記の特性からなる群から選択される特性を特徴とする多量体型タンパク質構造体：

( a ) 天然型 - ガラクトシダーゼをヒト血漿条件に 1 時間さらしたときの天然型 - ガラクトシダーゼの活性よりも少なくとも 1 0 % 大きい、多量体型タンパク質構造体をヒト血漿条件に 1 時間さらしたときの - ガラクトシダーゼ活性；

( b ) 天然型 - ガラクトシダーゼの活性が、天然型 - ガラクトシダーゼをヒト血漿条件に 1 時間さらしたときに低下する割合よりも少なくとも 1 0 % 小さい割合で、多量体型タンパク質構造体をヒト血漿条件に 1 時間さらしたときに低下する - ガラクトシダーゼ活性；

( c ) 多量体型タンパク質構造体をヒト血漿条件に 1 時間さらしたとき、実質的に変化しないままである - ガラクトシダーゼ活性；

( d ) 天然型 - ガラクトシダーゼをリソソーム条件に 1 週間さらしたときの天然型 - ガラクトシダーゼの活性よりも少なくとも 1 0 % 大きい、多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件に 1 週間さらしたときの - ガラクトシダーゼ活性；

( e ) 天然型 - ガラクトシダーゼの活性が、天然型 - ガラクトシダーゼをリソソーム条件に 1 日間さらしたときに低下する割合よりも少なくとも 1 0 % 小さい割合で、多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件に 1 日間さらしたときに低下する - ガラクトシダーゼ活性；

( f ) 多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件に 1 日間さらしたとき、実質的に変化しないままである - ガラクトシダーゼ活性；

( g ) 多量体型タンパク質の天然型形態をリソソーム条件にさらした直後の天然型 -

ガラクトシダーゼの活性よりも少なくとも10%大きい、多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件にさらした直後の - ガラクトシダーゼ活性；

(h) 天然型 - ガラクトシダーゼを、7のpHおよび37の温度を有する水溶液にさらした直後の天然型 - ガラクトシダーゼの活性よりも少なくとも10%大きい、多量体型タンパク質構造体を、7のpHおよび37の温度を有する水溶液にさらした直後の - ガラクトシダーゼ活性；および

(i) 天然型 - ガラクトシダーゼの循環半減期よりも少なくとも20%大きい生理学的システムにおける循環半減期。

【請求項2】

連結成分を介して互いに共有結合で連結された少なくとも2つの - ガラクトシダーゼモノマーを含む多量体型タンパク質構造体であって、連結成分が天然型 - ガラクトシダーゼにおいて存在しない多量体型タンパク質構造体。

【請求項3】

下記の特性からなる群から選択される特性を特徴とする、請求項2に記載の多量体型タンパク質構造体：

(a) 天然型 - ガラクトシダーゼをヒト血漿条件に1時間さらしたときの天然型 - ガラクトシダーゼの活性よりも少なくとも10%大きい、多量体型タンパク質構造体をヒト血漿条件に1時間さらしたときの - ガラクトシダーゼ活性；

(b) 天然型 - ガラクトシダーゼの活性が、天然型 - ガラクトシダーゼをヒト血漿条件に1時間さらしたときに低下する割合よりも少なくとも10%小さい割合で、多量体型タンパク質構造体をヒト血漿条件に1時間さらしたときに低下する - ガラクトシダーゼ活性；

(c) 多量体型タンパク質構造体をヒト血漿条件に1時間さらしたとき、実質的に変化しないままである - ガラクトシダーゼ活性；

(d) 天然型 - ガラクトシダーゼをリソソーム条件に1週間さらしたときの天然型 - ガラクトシダーゼの活性よりも少なくとも10%大きい、多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件に1週間さらしたときの - ガラクトシダーゼ活性；

(e) 天然型 - ガラクトシダーゼの活性が、天然型 - ガラクトシダーゼをリソソーム条件に1日間さらしたときに低下する割合よりも少なくとも10%小さい割合で、多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件に1日間さらしたときに低下する - ガラクトシダーゼ活性；

(f) 多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件に1日間さらしたとき、実質的に変化しないままである - ガラクトシダーゼ活性；

(g) 天然型 - ガラクトシダーゼをリソソーム条件にさらした直後の天然型 - ガラクトシダーゼの活性よりも少なくとも10%大きい、多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件にさらした直後の - ガラクトシダーゼ活性；

(h) 天然型 - ガラクトシダーゼを、7のpHおよび37の温度を有する水溶液にさらした直後の天然型 - ガラクトシダーゼの活性よりも少なくとも10%大きい、多量体型タンパク質構造体を、7のpHおよび37の温度を有する水溶液にさらした直後の - ガラクトシダーゼ活性；および

(i) 天然型 - ガラクトシダーゼの循環半減期よりも大きい生理学的システムにおける循環半減期。

【請求項4】

天然型 - ガラクトシダーゼの循環半減期よりも大きい多量体型タンパク質構造体の循環半減期は、天然型 - ガラクトシダーゼの循環半減期よりも少なくとも20%大きい、請求項3に記載の多量体型タンパク質構造体。

【請求項5】

多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件に1日間さらしたとき、実質的に変化しないままである多量体型タンパク質構造体の - ガラクトシダーゼ活性はさらに、多量体型タンパク質構造体をリソソーム条件に1週間さらしたとき、実質的に変化しないままであ

る、請求項 3 または 4 に記載の多量体型タンパク質構造体。

【請求項 6】

多量体型タンパク質構造体は、多量体型タンパク質構造体を脊椎動物に投与したときの器官における  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ活性によって特徴づけられ、器官は、脾臓、心臓および腎臓からなる群から選択される、請求項 2 ~ 5 のいずれかに記載の多量体型タンパク質構造体。

【請求項 7】

多量体型タンパク質構造体は 2 つの  $\alpha$ -ガラクトシダーゼモノマーを含み、タンパク質構造体はダイマー型タンパク質構造体である、請求項 2 ~ 6 のいずれかに記載の多量体型タンパク質構造体。

【請求項 8】

$\alpha$ -ガラクトシダーゼは、配列番号 1、配列番号 2 および配列番号 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項 2 ~ 7 のいずれかに記載の多量体型タンパク質構造体。

【請求項 9】

連結成分はポリ(アルキレングリコール)を含む、請求項 2 ~ 8 のいずれかに記載の多量体型タンパク質構造体。

【請求項 10】

前記連結成分は下記一般式を有する、請求項 2 ~ 8 のいずれかに記載の多量体型タンパク質構造体：



式中、 $X_1$  および  $X_2$  の各々は、少なくとも 1 つの  $\alpha$ -ガラクトシダーゼモノマーとの共有結合を形成する官能基であり；

$Y$  は O、S または  $NR_5$  であり；

$n$  は 1 ~ 200 の整数であり；および

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $R_5$  の各々は、水素、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、ヒドロキシ、オキソ、チオールおよびチオアルコキシからなる群から独立して選択される。

【請求項 11】

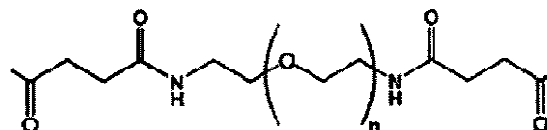
$n$  は少なくとも 25 である、請求項 10 に記載の多量体型タンパク質構造体。

【請求項 12】

2 つの  $\alpha$ -ガラクトシダーゼモノマーを含む、請求項 10 に記載の多量体型タンパク質構造体であって、タンパク質構造体がダイマー型タンパク質構造体であり、前記  $\alpha$ -ガラクトシダーゼが配列番号 1、配列番号 2 および配列番号 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有し、前記官能基の各々が  $\alpha$ -ガラクトシダーゼモノマーとアミド結合を形成し、 $n$  が 40 ~ 70 の整数である、多量体型タンパク質構造体。

【請求項 13】

2 つの  $\alpha$ -ガラクトシダーゼモノマーを含む、請求項 8 に記載の多量体型タンパク質構造体であって、タンパク質構造体がダイマー型タンパク質構造体であり、前記連結部分が下記一般式を有する、多量体型タンパク質構造体：



ただし、前記連結部分におけるポリエチレングリコールの分子量は 2 kDa であり、前記連結部分の末端基はそれぞれ  $\alpha$ -ガラクトシダーゼモノマーとアミド結合を形成する。

【請求項 14】

ファブリー病を処置する際に使用されるためのものである、請求項 2 ~ 12 のいずれかに記載の多量体型タンパク質構造体。

## 【請求項 15】

請求項 2 ～ 13 のいずれかに記載の多量体型タンパク質構造体を調製するプロセスであって、  
- ガラクトシダーゼを、連結成分と、少なくとも 2 つの反応基とを含む架橋剤と反応させることを含むプロセス。

## 【請求項 16】

- ガラクトシダーゼのモノマーに対する架橋剤のモル比が 5 : 1 ～ 500 : 1 の範囲にある、請求項 15 に記載のプロセス。