

【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3部門第2区分

【発行日】平成26年3月20日(2014.3.20)

【公表番号】特表2013-518893(P2013-518893A)

【公表日】平成25年5月23日(2013.5.23)

【年通号数】公開・登録公報2013-026

【出願番号】特願2012-552071(P2012-552071)

【国際特許分類】

A 6 1 K 38/51 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 K 47/02 (2006.01)

A 6 1 K 47/18 (2006.01)

A 6 1 K 47/10 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

C 1 2 N 9/88 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 37/56 Z N A

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/02

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 47/10

A 6 1 P 3/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

C 1 2 N 9/88

【手続補正書】

【提出日】平成26年1月31日(2014.1.31)

【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】

(a) ペグ化アナベナ バリアピリスフェニルアラニンアンモニア-リアーゼ(AvPAL)変異体の位置503及び565のシステイン残基がセリン残基(配列番号11)によって置換されており、該AvPAL変異体がポリエチレングリコールを含み、AvPAL変異体と該ポリエチレングリコールの比が約1:3であるAvPAL変異体と、

(b)(i)Tris-HCl、(ii)NaCl、(iii)L-フェニルアラニン(Phe)及び(iv)グリシン(Gly)を含む医薬として許容し得る担体と

を含む、配合物。

【請求項2】

前記ペグ化AvPAL変異体の濃度が約5から15mg/mLである、請求項1記載の配合物。

【請求項3】

Tris-HClの濃度が約5から15mMである、請求項1又は2記載の配合物。

【請求項4】

NaClの濃度が約120から150mMである、請求項1から3のいずれか一項記載の配合物。

【請求項5】

Pheの濃度が約0.5から1.5mMである、請求項1から4のいずれか一項記載の配合物。

【請求項6】

Glyの濃度が約1.0から100mM、約1.0から20mM又は20から100mMである、請求項1から5のいずれか一項記載の配合物。

【請求項7】

前記配合物のpHが約6.5から7.5である、請求項1から6のいずれか一項記載の配合物。

【請求項8】

前記配合物のpHが約7.0から7.6である、請求項1から7のいずれか一項記載の配合物。

【請求項9】

防腐剤としてm-クレゾールを更に含む、請求項1から8のいずれか一項記載の配合物。

【請求項10】

m-クレゾールの濃度が約0.3%から0.5%(w/v)である、請求項9記載の配合物。

【請求項11】

(a)ペグ化AvPAL変異体の位置503及び565のシステイン残基がセリン残基(配列番号11)によって置換されており、該AvPAL変異体がポリエチレングリコールを含み、AvPAL変異体と該ポリエチレングリコールの比が約1:3であるペグ化AvPAL変異体と、

(b)(i)Tris-HCl、(ii)NaCl、(iii)Phe及び(iv)Glyを含む医薬として許容し得る担体とを含む配合物であって、約7.3+/-0.3のpHを有する、前記配合物。

【請求項12】

ペグ化AvPAL変異体の濃度が約10+/-5mg/mLである、請求項11記載の配合物。

【請求項13】

Tris-HClの濃度が約10+/-5mMである、請求項11又は12記載の配合物。

【請求項14】

NaClの濃度が約135+/-15mMである、請求項11から13のいずれか一項記載の配合物。

【請求項15】

Pheの濃度が約1.0+/-0.5mMであり、Glyの濃度が約50.5+/-49.5mM、約10.5+/-9.5mM又は約60+/-40mMである、請求項11から14のいずれか一項記載の配合物。

【請求項16】

防腐剤としてm-クレゾールを更に含む、請求項11から15のいずれか一項記載の配合物。

【請求項17】

m-クレゾールの濃度が約0.4+/-0.1%(w/v)である、請求項16記載の配合物。

【請求項18】

(a)ペグ化AvPAL変異体の位置503及び565のシステイン残基がセリン残基(配列番号11)によって置換されており、該AvPAL変異体がポリエチレングリコールを含み、AvPAL変異体と該ポリエチレングリコールの比が約1:3であるペグ化AvPAL変異体と、

(b)(i)約10+/-5mMのTris-HCl;(ii)約135+/-15mMのNaCl;(iii)約1+/-0.5mMのPhe;(iv)約50.5+/-49.5mM、約10.5+/-9.5mM又は約60+/-40mMのGly;及び(v)約0.4+/-0.1%(w/v)のm-クレゾールを保存剤として含む医薬として許容し得る担体と

を含む配合物であって、約7.3+/-0.3のpHを有する、前記配合物。

【請求項19】

前記ペグ化AvPAL変異体の保存寿命(T_{90})が、Pheの存在しない対応するペグ化AvPAL変異体配合物と比較して、4 から42 の間の温度で、1.5倍から10倍の間で増加する、請求項1から18のいずれか一項記載の配合物。

【請求項20】

前記ペグ化AvPAL変異体の T_{90} が、25 において4倍から5倍の間、37 において2倍から3倍の間、42 において2倍から3倍の間、又はその組合せで増加する、請求項19記載の配合

物。

【請求項 2 1】

最小限の凝集でペグ化アナベナ バリアピリスフェニルアラニンアンモニア-リアーゼ(AvPAL)変異体を精製するための方法であって、

- (a) 該AvPAL変異体を含む細菌細胞を均質化によって溶解して、細胞溶解物を生成すること；
- (b) 該細胞溶解物を30から120分間にわたって65 に加熱すること；
- (c) 加熱された細胞溶解物を遠心分離することであって、該AvPAL変異体を含む上澄みを保持すること；
- (d) 該上澄みをろ過して、沈殿物を除去すること；
- (e) 陰イオン交換(AIEX)カラム、続いて疎水性相互作用(HIC)カラムによる連続クロマトグラフィーによって、AvPAL変異体を汚染タンパク質から分離することであって、HICカラムからの溶出液が該AvPAL変異体を含むこと；
- (f) 該AvPAL変異体を含む該HICカラムからの該溶出液を限外ろ過又は限外ろ過/透析ろ過すること；
- (g) ポリエチレングリコールと該AvPAL変異体とを混合することによって該AvPAL変異体をペグ化すること；
- (h) 限外ろ過/透析ろ過によって遊離ポリエチレングリコールを該ペグ化AvPAL変異体から除去すること；及び
- (i) 該ペグ化AvPAL変異体を配合することを含み、
該AvPAL変異体の位置503及び565のシステイン残基がセリン残基(配列番号11)によって置換されており、該AvPAL変異体がポリエチレングリコールを含む、前記方法。

【請求項 2 2】

AvPAL変異体と前記ポリエチレングリコールの比が約1:3である、請求項21記載の方法。

【請求項 2 3】

前記AIEXカラムがToyopearl Giga Cap Q 650Mカラムである、請求項21記載の方法。

【請求項 2 4】

前記HICカラムがToyopearl Butyl 650Mカラムである、請求項21記載の方法。

【請求項 2 5】

ステップ(e)で得られた前記AvPAL変異体を含む前記HICカラムからの溶出液を凍結及び解凍することであって、グリセロール、スクロース、グルコース、トレハロース、マンニトール及びソルビトールからなる群から選択される1以上のポリオール又は糖を凍結の前に該HICカラム溶出液に添加することを更に含む、請求項21記載の方法。

【請求項 2 6】

前記ポリオールがグリセロールである、請求項25記載の方法。

【請求項 2 7】

前記グリセロールの濃度が10%(v/v)である、請求項26記載の方法。

【請求項 2 8】

前記糖がスクロースである、請求項25記載の方法。

【請求項 2 9】

スクロースの濃度が10%(v/v)である、請求項28記載の方法。

【請求項 3 0】

前記AvPAL変異体を含む前記HICカラムからの溶出液の凍結を不連続温度ステップで実施する、請求項25記載の方法。

【請求項 3 1】

前記AvPAL変異体を含む前記HICカラムからの溶出液の解凍を不連続温度ステップで実施する、請求項25記載の方法。

【請求項 3 2】

前記AvPAL変異体を含む前記HICカラムからの溶出液の凍結及び解凍を不連続温度ステップで実施する、請求項25記載の方法。

【請求項 3 3】

ステップ(f)における透析ろ過緩衝液が、リン酸カリウム(Kpi)、及びtrans-桂皮酸(t-C A)及びグリセロールからなる1以上の薬剤を含む、請求項21記載の方法。

【請求項 3 4】

前記透析ろ過緩衝液が、50mMのKpi、10mMのt-CA、5%のグリセロール(pH8.5)を含む、請求項33記載の方法。

【請求項 3 5】

ステップ(f)で得られた前記AvPAL変異体を含む前記HICカラムからの限外ろ過、又は限外ろ過/透析ろ過溶出液に非イオン性洗剤を添加する、請求項21記載の方法。

【請求項 3 6】

前記非イオン性洗剤がポリソルベート80(PS80)である、請求項35記載の方法。

【請求項 3 7】

前記PS80の濃度が0.02%である、請求項36記載の方法。

【請求項 3 8】

最小限の凝集でアナベナ バリアピリスフェニルアラニンアンモニア-リアーゼ(AvPAL)変異体を精製するための方法であって、

(a) 該AvPAL変異体を発現する細菌細胞を均質化によって溶解して、細胞溶解物を生成すること;

(b) 該細胞溶解物を30から120分間にわたって65 に加熱すること;

(c) 加熱された細胞溶解物を遠心分離することであって、該AvPAL変異体を含む上澄みを保持すること;

(d) 該上澄みをろ過して、沈殿物を除去すること;及び

(e) 陰イオン交換(AIEX)カラム、続いて疎水性相互作用(HIC)カラムによる連続クロマトグラフィーによって、AvPAL変異体を汚染タンパク質から分離することであって、HICカラムからの溶出液が該AvPAL変異体を含むことを含み、

該AvPAL変異体の位置503及び565のシステイン残基がセリン残基(配列番号11)によって置換されている、前記方法。

【請求項 3 9】

前記AIEXカラムがToyopearl Giga Cap Q 650Mカラムである、請求項38記載の方法。

【請求項 4 0】

前記HICカラムがToyopearl Butyl 650Mカラムである、請求項38記載の方法。

【請求項 4 1】

フェニルアラニンヒドロキシラーゼ(PAH)の欠乏を有する被験者の、PAHの欠乏によって全体的又は部分的に引き起こされる疾患を治療するための医薬の製造のための、請求項1から20のいずれか一項に記載の配合物、又は請求項21から37のいずれか一項により精製されたベグ化AvPAL変異体を含む配合物の使用。

【請求項 4 2】

前記疾患がフェニルアラニンレベルの上昇によって特徴付けられる、請求項41記載の使用。

【請求項 4 3】

前記被験者が正常なPAH活性の約10%以下を有する、請求項41又は42記載の使用。

【請求項 4 4】

フェニルケトン尿症(PKU)を有する被験者を治療するための医薬を製造するための、請求項1から20のいずれか一項に記載の配合物、又は請求項21から37のいずれか一項により精製されたベグ化AvPAL変異体を含む配合物の使用であって、該AvPAL変異体は、投与された場合に、該被験者の血漿におけるフェニルアラニン濃度を、該投与のない該濃度と比較して低下させるのに有効である、前記使用。

【請求項 4 5】

前記被験者が突然変異体PAHを有する、請求項41から44のいずれか一項記載の使用。

【請求項 4 6】

前記突然変異体PAHがPAHの触媒領域に突然変異を含む、請求項45記載の使用。

【請求項 4 7】

前記突然変異が、F39L、L48S、I65T、R68S、A104D、S110C、D129G、E178G、V190A、P211T、R241C、R261Q、A300S、L308F、A313T、K320N、A373T、V388M E390G、A395P、P407S及びY414Cからなる群から選択される1以上の突然変異を含む、請求項46記載の使用。

【請求項 4 8】

高フェニルアラニン血症(HPA)を有する妊婦を治療するための医薬の製造における、タンパク質制限食と組み合わせた、請求項1から20のいずれか一項記載の配合物、又は請求項21から37のいずれか一項により精製されたペグ化AvPAL変異体を含む配合物の使用であって、該タンパク質制限食と組み合わせた該配合物が、投与された場合に、該女性の血漿フェニルアラニン濃度を、該併用投与のない該濃度と比較して低下させるのに有効である、前記使用。

【請求項 4 9】

血漿フェニルアラニンが増加した被験者の血漿フェニルアラニン濃度の上昇を治療するための医薬の製造のための、請求項1から20のいずれか一項記載の配合物、又は請求項21から37のいずれか一項により精製されたペグ化AvPAL変異体を含む配合物の使用であって、該配合物の量が、該被験者の血漿フェニルアラニン濃度の減少をもたらすのに有効である、前記使用。

【請求項 5 0】

PKUを有する幼児を治療するための医薬を製造するための、請求項1から20のいずれか一項記載の配合物、又は請求項21から37のいずれか一項により精製されたペグ化AvPAL変異体を含む配合物の使用であって、該配合物の量が、該幼児の血漿フェニルアラニン濃度の減少をもたらすのに有効であり、該幼児が0から3歳の間であり、該幼児の血漿フェニルアラニン濃度が約360 μM から約4800 μM の間である、前記使用。

【請求項 5 1】

被験者の血漿フェニルアラニン濃度を減少させるための医薬の製造のための、請求項1から20のいずれか一項記載の配合物、又は請求項21から37のいずれか一項により精製されたペグ化AvPAL変異体を含む配合物の有効量の使用。

【請求項 5 2】

前記被験者の血漿フェニルアラニン濃度が、約200 μM を超えている、請求項51記載の使用。

【請求項 5 3】

前記有効量が、前記被験者の血漿フェニルアラニン濃度を10%以上減少させる、請求項51又は52記載の使用。

【請求項 5 4】

前記被験者がPAH活性の欠乏を有する、請求項51から53のいずれか一項記載の使用。

【請求項 5 5】

前記被験者が突然変異体PAHを有する、請求項51から54のいずれか一項記載の使用。

【請求項 5 6】

前記突然変異体PAHがPAHの触媒領域に突然変異を含む、請求項55記載の使用。

【請求項 5 7】

前記突然変異が、F39L、L48S、I65T、R68S、A104D、S110C、D129G、E178G、V190A、P211T、R241C、R261Q、A300S、L308F、A313T、K320N、A373T、V388M E390G、A395P、P407S及びY414Cからなる群から選択される1以上の突然変異を含む、請求項56記載の使用。

【請求項 5 8】

タンパク質制限食と組み合わせて使用するための、請求項51から57のいずれか一項記載の使用。

【請求項 5 9】

前記被験者がPKUを有する、請求項51から58のいずれか一項記載の使用。

【請求項 6 0】

前記PKUが古典的な重度PKUである、請求項59記載の使用。

【請求項61】

前記被験者が妊婦である、請求項51から60のいずれか一項記載の使用。

【請求項62】

タンパク質制限食と組み合わせて使用するための、請求項61記載の使用。

【請求項63】

前記被験者が0から3歳である、請求項51から60のいずれか一項記載の使用。

【請求項64】

癌を有する被験者を治療するための医薬を製造するための、請求項1から20のいずれか一項記載の配合物、又は請求項21から37のいずれか一項により精製されたペグ化AvPAL変異体を含む配合物の有効量の使用。

【請求項65】

前記有効量が、前記被験者の血液、血清又は血漿フェニルアラニン濃度を検出レベル未満の濃度から20 μ Mと60 μ Mとの間の濃度の範囲まで減少させる、請求項64記載の使用。

【請求項66】

前記癌が、肺癌、脳癌、中枢神経系の癌、結腸癌、前立腺癌、腎臓癌、頭及び首の癌、卵巣癌、子宮癌、膀胱癌、乳癌、膵臓癌、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、骨髄腫、小児癌又は抵抗性癌である、請求項64又は65記載の使用。

【請求項67】

前記癌が転移性黒色腫である、請求項64又は65記載の使用。

【請求項68】

前記癌に由来する細胞の増殖及び/又は生存が、フェニルアラニンの制限又は欠失に感受性のある、請求項64から67のいずれか一項記載の使用。

【請求項69】

癌治療薬又は標的化癌治療薬を含む医薬組成物の治療有効量と組み合わせて使用するための、請求項64から68のいずれか一項記載の使用。

【請求項70】

タンパク質制限食と組み合わせて使用するための、請求項64から69のいずれか一項記載の使用。

【請求項71】

前記有効量が、前記被験者の血液、血清又は血漿フェニルアラニン濃度を検出レベル未満の濃度から約20 μ M未満の濃度の範囲まで減少させる、請求項64から70のいずれか一項記載の使用。

【請求項72】

前記有効量が、前記被験者の血液、血清又は血漿フェニルアラニン濃度を検出レベル未満の濃度から約10 μ M未満の濃度の範囲まで減少させる、請求項64から71のいずれか一項記載の使用。

【請求項73】

癌を有する被験者の血液、血清又は血漿フェニルアラニン濃度を減少させるための医薬の製造のための、請求項1から20のいずれか一項記載の配合物、又は請求項21から37のいずれか一項により精製されたペグ化AvPAL変異体を含む配合物の治療有効量の使用。

【請求項74】

前記有効量が、前記被験者の血液、血清又は血漿フェニルアラニン濃度を検出レベル未満の濃度から20 μ Mと60 μ Mとの間の濃度の範囲まで減少させる、請求項73記載の使用。

【請求項75】

前記被験者がヒトである、請求項41から74のいずれか一項記載の使用。