

【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1月24日 (2013.1.24)

【公開番号】特開2012-90630(P2012-90630A)

【公開日】平成24年5月17日 (2012.5.17)

【年通号数】公開・登録公報2012-019

【出願番号】特願2011-235922(P2011-235922)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 1 2 N 9/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/40 (2006.01)

C 1 2 Q 1/25 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

G 0 1 N 33/573 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

C 0 7 K 14/47

C 1 2 N 9/00

C 0 7 K 16/40

C 1 2 Q 1/25

C 1 2 N 15/00 F

C 0 7 K 16/46

C 1 2 N 5/00 2 0 2 A

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 37/00 1 0 2

G 0 1 N 33/573 A

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 43/00 1 1 1

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成24年11月22日(2012.11.22)

【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】

スルファターゼおよびホルミルグリシン生成酵素(FGE)を共発現する哺乳動物細胞により生産されたスルファターゼを含む組成物であって、該スルファターゼが、FGEの非存在下において同じ哺乳動物細胞により生産される対照スルファターゼと比較して活性型スルファターゼの比が上昇している、組成物。

【請求項2】

全スルファターゼに対する活性型スルファターゼの比が、FGEの非存在下において生産された対照スルファターゼと比べて少なくとも5%上昇している、請求項1記載の組成物。

【請求項3】

全スルファターゼに対する活性型スルファターゼの比が、FGEの非存在下において生産された対照スルファターゼと比べて少なくとも10%上昇している、請求項1記載の組成物。

【請求項4】

全スルファターゼに対する活性型スルファターゼの比が、FGEの非存在下において生産された対照スルファターゼと比べて少なくとも20%上昇している、請求項1記載の組成物。

【請求項5】

前記哺乳動物細胞が、FGEを過剰発現する、請求項1～4のいずれか一項記載の組成物。

【請求項6】

前記哺乳動物細胞が、外因性FGEを活性化することにより、FGEを過剰発現する、請求項5記載の組成物。

【請求項7】

前記哺乳動物細胞が、外因性FGEを過剰発現することにより、FGEを過剰発現する、請求項5記載の組成物。

【請求項8】

野生型細胞と比べて増加したC_α-ホルミルグリシン生成活性を有する哺乳動物細胞により生産されたスルファターゼを含む組成物であって、該スルファターゼが、野生型細胞により生産される対照スルファターゼと比べてスルファターゼによるホルミルグリシンの形成が増加している、組成物。

【請求項9】

前記哺乳動物細胞が、活性型内因性ホルミルグリシン生成酵素(FGE)を含む、請求項8記載の組成物。

【請求項10】

前記哺乳動物細胞が、外因性ホルミルグリシン生成酵素(FGE)を含む、請求項8記載の組成物。

【請求項11】

前記スルファターゼが、イズロン酸2-スルファターゼ、スルファミダーゼ、N-アセチルガラクトサミン6-スルファターゼ、N-アセチルグルコサミン6-スルファターゼ、アリアルスルファターゼA、アリアルスルファターゼB、アリアルスルファターゼC、アリアルスルファターゼD、アリアルスルファターゼE、アリアルスルファターゼF、アリアルスルファ

ターゼG、HSulf-1、HSulf-2、HSulf-3、HSulf-4、HSulf-5およびHSulf-6からなる群から選択される、請求項1～10のいずれか一項記載の組成物。

【請求項12】

前記スルファターゼがイズロン酸2-スルファターゼである、請求項11記載の組成物。

【請求項13】

前記イズロン酸2-スルファターゼが配列番号：7記載の配列を含む、請求項12記載の組成物。

【請求項14】

前記スルファターゼがアリールスルファターゼAである、請求項11記載の組成物。

【請求項15】

前記哺乳動物細胞がCHO細胞である、請求項1～14のいずれか一項記載の組成物。

【請求項16】

前記哺乳動物細胞がヒト細胞である、請求項1～14のいずれか一項記載の組成物。

【請求項17】

対象においてスルファターゼ欠損症を治療するための薬学的組成物であって、該組成物が、スルファターゼおよびホルミルグリシン生成酵素（FGE）を共発現する哺乳動物細胞により生産されたスルファターゼを含み、ここで、該スルファターゼが、FGEの非存在下において同じ哺乳動物細胞により生産される対照スルファターゼと比較して活性型スルファターゼの比が上昇している、組成物。

【請求項18】

対象においてスルファターゼ欠損症を治療するための薬学的組成物であって、該組成物が、野生型細胞と比べて増加したC₆-ホルミルグリシン生成活性を有する哺乳動物細胞により生産されたスルファターゼを含み、ここで、該スルファターゼが、野生型細胞により生産される対照スルファターゼと比べてスルファターゼによるホルミルグリシンの形成が増加している、組成物。

【請求項19】

前記スルファターゼ欠損症が、ムコ多糖症II（MPS II；ハンター症候群）、ムコ多糖症IIIA（MPS IIIA；サンフィリポ症候群A）、ムコ多糖症VIII（MPS VIII）、ムコ多糖症IVA（MPS IVA；モルキオ症候群A）、ムコ多糖症VI（MPS VI；マローター-ラミー症候群）、異染性ロイコジストロフィー（MLD）、X連鎖性劣性点状軟骨異形成症1、およびX連鎖性魚鱗癬（ステロイドスルファターゼ欠損症）からなる群から選択される、請求項17または18記載の薬学的組成物。

【請求項20】

前記スルファターゼ欠損症が、ムコ多糖症II（MPS II；ハンター症候群）である、請求項19記載の薬学的組成物。

【請求項21】

前記スルファターゼ欠損症が、異染性ロイコジストロフィー（MLD）である、請求項19記載の薬学的組成物。

【請求項22】

前記スルファターゼ欠損症が、ムコ多糖症IIIA（MPS IIIA；サンフィリポ症候群A）である、請求項19記載の薬学的組成物。

【請求項23】

前記スルファターゼが、イズロン酸2-スルファターゼ、スルファミダーゼ、N-アセチルガラクトサミン6-スルファターゼ、N-アセチルグルコサミン6-スルファターゼ、アリールスルファターゼA、アリールスルファターゼB、アリールスルファターゼC、アリールスルファターゼD、アリールスルファターゼE、アリールスルファターゼF、アリールスルファターゼG、HSulf-1、HSulf-2、HSulf-3、HSulf-4、HSulf-5およびHSulf-6からなる群から選択される、請求項17または18記載の薬学的組成物。

【請求項24】

前記スルファターゼがイズロン酸2-スルファターゼである、請求項23記載の組成物。

【請求項 25】

前記スルファターゼがアリールスルファターゼAである、請求項 23 記載の組成物。

【請求項 26】

(i) スルファターゼ、および

(ii) ホルミルグリシン生成酵素 (FGE)

を共発現するスルファターゼ産生細胞であって、該細胞が、野生型細胞と比べて増加した C_{α} -ホルミルグリシン生成活性を有することにより、細胞により生産される全スルファターゼに対する活性型スルファターゼの比が増加している、細胞。

【請求項 27】

前記細胞が、外因性 FGE を含む、請求項 26 記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 28】

前記細胞が、活性型内因性 FGE を含む、請求項 26 記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 29】

前記 FGE が、配列番号：2 のアミノ酸 34 ~ 374、配列番号：2、5、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、および 78 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 26 ~ 28 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 30】

前記 FGE が、配列番号：2 のアミノ酸 34 ~ 374 を含む、請求項 29 記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 31】

前記 FGE が、配列番号：2 記載のアミノ酸配列を含む、請求項 29 記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 32】

前記細胞により生産される全スルファターゼに対する活性型スルファターゼの比が、FGE の非存在下における比に対して少なくとも 5 % 高い、請求項 26 ~ 31 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 33】

前記細胞により生産される全スルファターゼに対する活性型スルファターゼの比が、FGE の非存在下における比に対して少なくとも 10 % 高い、請求項 26 ~ 32 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 34】

前記細胞により生産される全スルファターゼに対する活性型スルファターゼの比が、FGE の非存在下における比に対して少なくとも 20 % 高い、請求項 26 ~ 33 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 35】

前記スルファターゼが、イズロン酸2-スルファターゼ、スルファミダーゼ、N-アセチルガラクトサミン6-スルファターゼ、N-アセチルグルコサミン6-スルファターゼ、アリールスルファターゼA、アリールスルファターゼB、アリールスルファターゼC、アリールスルファターゼD、アリールスルファターゼE、アリールスルファターゼF、アリールスルファターゼG、HSulf-1、HSulf-2、HSulf-3、HSulf-4、HSulf-5 および HSulf-6 からなる群から選択される、請求項 26 ~ 34 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 36】

前記スルファターゼが、内因性スルファターゼである、請求項 26 ~ 35 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 37】

前記スルファターゼが、外因性スルファターゼである、請求項 26 ~ 35 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 38】

前記 FGE が、活性型内因性 FGE である、請求項 26 ~ 37 のいずれか一項記載のス

ルファターゼ産生細胞。

【請求項 39】

前記 FGE が、外因性 FGE である、請求項 26 ~ 37 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 40】

前記細胞が哺乳動物細胞である、請求項 26 ~ 39 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 41】

前記哺乳動物細胞がヒト細胞である、請求項 40 記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 42】

前記哺乳動物細胞が CHO 細胞である、請求項 40 記載のスルファターゼ産生細胞。

【請求項 43】

請求項 26 ~ 42 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞により生産されたスルファターゼ。

【請求項 44】

請求項 43 記載のスルファターゼを含む薬学的組成物。

【請求項 45】

請求項 26 ~ 42 のいずれか一項記載のスルファターゼ産生細胞を培養するステップを含む、活性型スルファターゼを生産する方法。

【請求項 46】

スルファターゼ欠損症を治療するのに用いるための薬剤を調製するためのポリペプチドであって、該ポリペプチドが、C_α-ホルミルグリシン生成活性を有し、かつ、

a) 配列番号：2、5、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、および78、ならびに配列番号：2のアミノ酸34 ~ 374からなる群から選択される配列を有するか、

b) 配列番号：2記載の配列と少なくとも50%の配列同一性を有するか、

c) 前記 a) もしくは b) 記載のポリペプチドに対して1もしくは複数の保守的アミノ酸変異を有するか、

d) 前記 a) に記載のポリペプチドのフラグメントであるか、または

e) 前記 a) もしくは b) のいずれかの融合タンパク質である、

ポリペプチド。

【請求項 47】

前記 b) における配列同一性が、少なくとも75%である、請求項 46 記載のポリペプチド。

【請求項 48】

前記 b) における配列同一性が、少なくとも95%である、請求項 46 記載のポリペプチド。

【請求項 49】

前記 FGE が、C_α-ホルミルグリシン生成活性を有し、かつ、以下：

(i) GFR モチーフ、

(ii) RVXXGG(A)S モチーフ、

(iii) 3つのアルギニンを含むヘプタマー、および

(iv) 3つのシステイン残基

のうちの少なくとも1つを含むサブドメイン3を有する、請求項 46 ~ 48 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 50】

請求項 46 ~ 49 のいずれか一項記載のポリペプチドをコードする核酸または該核酸を含むベクター。

【請求項 51】

前記ベクターがウイルスベクターである、請求項 50 記載の核酸。

【請求項 5 2】

前記ウイルスベクターが、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、またはレトロウイルスからの核酸配列を含む、請求項 5 1 記載の核酸。

【請求項 5 3】

前記核酸が、遺伝子発現調節配列に機能的に結合している、請求項 5 0 ~ 5 2 のいずれか一項記載の核酸。

【請求項 5 4】

前記遺伝子発現調節配列が、哺乳動物またはウイルスプロモーターである、請求項 5 3 記載の核酸。

【請求項 5 5】

請求項 4 6 ~ 4 9 のいずれか一項記載のポリペプチドおよびスルファターゼを含む組成物またはキット。

【請求項 5 6】

請求項 5 0 ~ 5 4 のいずれか一項記載の核酸を含む組成物またはキット。

【請求項 5 7】

前記組成物またはキットが、スルファターゼをコードする核酸をさらに含む、請求項 5 6 記載の組成物またはキット

【請求項 5 8】

前記スルファターゼが、イズロン酸2-スルファターゼ、スルファミダーゼ、N-アセチルガラクトサミン6-スルファターゼ、N-アセチルグルコサミン6-スルファターゼ、アリールスルファターゼA、アリールスルファターゼB、アリールスルファターゼC、アリールスルファターゼD、アリールスルファターゼE、アリールスルファターゼF、アリールスルファターゼG、HSulf-1、HSulf-2、HSulf-3、HSulf-4、HSulf-5およびHSulf-6からなる群から選択される、請求項 5 5 または 5 7 記載の組成物またはキット。

【請求項 5 9】

前記スルファターゼをコードする核酸が、別個のベクターによりコードされる、請求項 5 7 または 5 8 記載の組成物またはキット。

【請求項 6 0】

ホルミルグリシン生成酵素 (F G E) を用いてアルデヒド基を導入するよう基質を修飾するステップを含む方法。

【請求項 6 1】

前記基質が、X-X-X-P-S-R (配列番号 : 3 2) の配列を含むスルファターゼである、請求項 6 0 記載の方法。

【請求項 6 2】

前記アルデヒド基がチオメチル基から置き換わる、請求項 6 0 または 6 1 記載の方法。

【請求項 6 3】

前記配列が、L-C-X-P-S-R、L-S-X-P-S-R、V-C-X-P-S-R、およびV-S-X-P-S-Rからなる群から選択される、請求項 6 1 記載の方法。

【請求項 6 4】

前記システインまたはセリンが酸化されている、請求項 6 3 記載の方法。

【請求項 6 5】

前記 F G E がポリペプチドとして供され、さらに、該ポリペプチドが、C_α-ホルミルグリシン生成活性を有し、かつ、

a) 配列番号 : 2、5、4 6、4 8、5 0、5 2、5 4、5 6、5 8、6 0、6 2、6 4、6 6、6 8、7 0、7 2、7 4、7 6、および7 8、ならびに配列番号 : 2 のアミノ酸 3 4 ~ 3 7 4 からなる群から選択される配列を有するか、

b) 配列番号 : 2 記載の配列と少なくとも 5 0 % の配列同一性を有するか、

c) 前記 a) もしくは b) 記載のポリペプチドに対して 1 もしくは複数の保守的アミノ酸変異を有するか、

d) 前記 a) に記載のポリペプチドのフラグメントであるか、または

e) 前記 a) もしくは b) のいずれかの融合タンパク質である、
請求項 60 ~ 64 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 66】

前記 FGE が、請求項 65 記載のポリペプチドをコードする核酸として供される、請求項 60 ~ 64 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 67】

前記修飾された基質が、担体と組み合わせられる、請求項 60 ~ 66 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 68】

スルファターゼ欠損症のための遺伝子治療のための組成物であって、配列番号：2 のアミノ酸 34 ~ 374 のアミノ酸配列と少なくとも 80 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むホルミルグリシン生成酵素 (FGE) をコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含み、ここで、該 FGE が C_α-ホルミルグリシン生成活性を有する、組成物。

【請求項 69】

前記 FGE が、配列番号：2 のアミノ酸 34 ~ 374 のアミノ酸配列と少なくとも 95 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 68 記載の組成物。

【請求項 70】

前記 FGE が、配列番号：2 のアミノ酸 34 ~ 374 のアミノ酸配列を含む、請求項 68 記載の組成物。

【請求項 71】

前記組成物が、システイン型スルファターゼをコードするポリヌクレオチドをさらに含む、請求項 68 記載の組成物。

【請求項 72】

前記システイン型スルファターゼをコードするポリペプチドが、別個のベクターによりコードされる、請求項 71 記載の組成物。

【請求項 73】

前記システイン型スルファターゼが、イズロン酸 2-スルファターゼ、スルファミダーゼ、N-アセチルガラクトサミン 6-スルファターゼ、N-アセチルグルコサミン 6-スルファターゼ、アリアルスルファターゼ A、アリアルスルファターゼ B、アリアルスルファターゼ C、アリアルスルファターゼ D、アリアルスルファターゼ E、アリアルスルファターゼ F、アリアルスルファターゼ G、HSulf-1、HSulf-2、HSulf-3、HSulf-4、HSulf-5 および HSulf-6 からなる群から選択される、請求項 71 記載の組成物。

【請求項 74】

前記ベクターがウイルスベクターである、請求項 68 記載の組成物。

【請求項 75】

前記ウイルスベクターが、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、またはレトロウイルスからの核酸配列を含む、請求項 74 記載の組成物。

【請求項 76】

前記ウイルスベクターが、アデノ随伴ウイルスからの核酸配列を含む、請求項 75 記載の組成物。

【請求項 77】

前記 FGE をコードするポリペプチドが、遺伝子発現調節配列に機能的に結合している、請求項 68 記載の組成物。

【請求項 78】

前記遺伝子発現調節配列が、哺乳動物またはウイルスプロモーターである、請求項 77 記載の組成物。

【請求項 79】

前記スルファターゼ欠損症が、ムコ多糖症 II (MPS II; ハンター症候群)、ムコ多糖症 IIIA (MPS IIIA; サンフィリポ症候群 A)、ムコ多糖症 VIII (MPS VIII)、ムコ多糖症 IVA (MPS IVA; モルキオ症候群 A)、ムコ多糖症 VI (MPS VI; マロトー-ラミー症候群)、異

染性ロイコジストロフィー（MLD）、X連鎖性劣性点状軟骨異形成症1、およびX連鎖性魚鱗癬（ステロイドスルファターゼ欠損症）からなる群から選択される、請求項68記載の組成物。

【請求項80】

前記スルファターゼ欠損症が、ムコ多糖症IIIA（MPS IIIA；サンフィリボ症候群A）である、請求項79記載の組成物。

【請求項81】

前記スルファターゼ欠損症が、ムコ多糖症II（MPS II；ハンター症候群）である、請求項79記載の組成物。

【請求項82】

前記スルファターゼ欠損症が、異染性ロイコジストロフィー（MLD）である、請求項79記載の組成物。

【請求項83】

配列番号：2のアミノ酸34～374のアミノ酸配列と少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含むホルミルグリシン生成酵素（FGE）をコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子治療ベクターであって、該FGEがC_α-ホルミルグリシン生成活性を有する、遺伝子治療ベクター。

【請求項84】

前記FGEが、配列番号：2のアミノ酸34～374のアミノ酸配列と少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項83記載の遺伝子治療ベクター。

【請求項85】

前記FGEをコードするポリペプチドが、遺伝子発現調節配列に機能的に結合している、請求項83記載の遺伝子治療ベクター。

【請求項86】

前記遺伝子発現調節配列が、哺乳動物またはウイルスプロモーターである、請求項85記載の組成物。

【請求項87】

配列番号：2のアミノ酸34～374のアミノ酸配列と少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含むホルミルグリシン生成酵素（FGE）をコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子治療ベクターで形質導入された細胞であって、該FGEがC_α-ホルミルグリシン生成活性を有する、細胞。

【請求項88】

前記細胞が初代細胞である、請求項87記載の細胞。

【請求項89】

前記細胞が二次細胞である、請求項87記載の細胞。

【請求項90】

前記細胞が、線維芽細胞、ケラチノサイト、上皮細胞、内皮細胞、グリア細胞、神経細胞、血液細胞、リンパ球、骨髄細胞、筋細胞、およびこれらの前駆細胞からなる群から選択される、請求項87記載の細胞。

【請求項91】

前記ベクターが細胞のゲノムに組み込まれる、請求項87記載の細胞。

【請求項92】

前記ベクターが、染色体外で機能する、請求項87記載の細胞。

【請求項93】

前記FGEをコードするポリペプチドが、遺伝子発現調節配列に機能的に結合している、請求項87記載の細胞。

【請求項94】

前記遺伝子発現調節配列が、哺乳動物またはウイルスプロモーターである、請求項93記載の細胞。

【請求項95】

前記哺乳動物プロモーターが、前記細胞の内因性プロモーターである、請求項 9 4 記載の細胞。