

【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31年4月11日(2019.4.11)

【公表番号】特表2018-516229(P2018-516229A)

【公表日】平成30年6月21日(2018.6.21)

【年通号数】公開・登録公報2018-023

【出願番号】特願2017-546779(P2017-546779)

【国際特許分類】

C 0 7 K 1/18 (2006.01)

G 0 1 N 30/02 (2006.01)

G 0 1 N 30/88 (2006.01)

G 0 1 N 30/96 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/536 (2006.01)

G 0 1 N 27/447 (2006.01)

C 0 7 K 16/12 (2006.01)

C 1 2 Q 1/06 (2006.01)

B 0 1 D 15/34 (2006.01)

B 0 1 D 15/36 (2006.01)

C 0 7 K 1/16 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/04 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 1/18

G 0 1 N 30/02 Z N A B

G 0 1 N 30/88 J

G 0 1 N 30/96 B

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/536 C

G 0 1 N 27/447 3 1 5 J

C 0 7 K 16/12

C 1 2 Q 1/06

B 0 1 D 15/34

B 0 1 D 15/36

C 0 7 K 1/16

C 1 2 N 1/21

C 0 7 K 16/46

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 9/04 Z

【手続補正書】

【提出日】平成31年3月4日(2019.3.4)

【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】

D s b A ポリペプチドを含む細胞溶解物からの前記 D s b A ポリペプチドの精製方法であって、

a) ポリエチレンジイミン (P E I) を、0 . 0 1 % ~ 1 . 0 % の最終濃度に、任意選択的に 0 . 1 % になるまで、前記 D s b A ポリペプチドを含む細胞溶解物に添加することと

b) 遠心分離により前記細胞溶解物を浄化することであって、任意選択的に前記浄化された細胞溶解物が 1 0 m M M O P S、p H 7 . 1 を含む、浄化することと、

c) 前記 D s b A ポリペプチドを含む前記浄化された細胞溶解物を陰イオン交換クロマトグラフィー材料に適用することと、

d) 前記陰イオン交換クロマトグラフィー材料から前記 D s b A ポリペプチドを溶出させて、前記 D s b A ポリペプチドを含む陰イオン交換溶出物を生成することと、

e) 前記 D s b A ポリペプチドを含む前記陰イオン交換溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィー材料に適用することと、

f) 前記陽イオン交換クロマトグラフィー材料から前記 D s b A ポリペプチドを溶出させて、精製された D s b A ポリペプチドを含む陽イオン交換溶出物を生成することと、を含む、前記方法。

【請求項 2】

前記 D s b A ポリペプチドを含む前記細胞溶解物が、陰イオン交換クロマトグラフィー前に前記 P E I 中に少なくとも約 1 6 時間保持される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記陰イオン交換クロマトグラフィー材料が強陰イオン交換体であり、任意選択的に第四級アミンであり、さらに任意選択的に第四級アミンが架橋アガロースに結合している、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

i) 前記 D s b A が、以下のステップ：

約 4 カラム体積の 1 5 % の約 2 5 m M T r i s 及び 2 5 0 m M N a C l (p H 9 . 2)、

4 カラム体積の 2 0 % の 2 5 m M T r i s 及び 2 5 0 m M N a C l (p H 9 . 2)

D s b A が前記カラムから溶出するまで 2 5 % の 2 5 m M T r i s 及び 2 5 0 m M N a C l (p H 9 . 2) で前記陰イオン交換クロマトグラフィー材料から溶出される；

i i) ステップ b) の前記 D s b A ポリペプチドを含む前記浄化された溶解物が、陰イオン交換クロマトグラフィー前に 0 . 2 2 μ m のフィルターに通される；

i i i) ステップ b) の前記 D s b A ポリペプチドを含む前記浄化された溶解物が、陰イオン交換クロマトグラフィー前に p H 9 . 0 に調整される；

i v) 前記陰イオン交換溶出物が画分で収集され、任意選択的に前記画分が陽イオン交換クロマトグラフィー前にサイズ排除クロマトグラフィーによって分析される；

v) 少なくとも 5 5 % の D s b A を含む陰イオン交換画分がさらなる精製のために選択される；

v i) ステップ d) の前記陰イオン交換溶出物が陽イオン交換クロマトグラフィー前に p H 5 . 0 に調整される；

v i i) ステップ e) の前記陽イオン交換クロマトグラフィー材料が溶出前に 5 カラム体積の 1 2 . 5 m M M E S で洗浄される；

v i i i) ステップ e) の前記陽イオン交換クロマトグラフィー材料から D s b A が 0 % から 6 0 % までの 1 2 . 5 m M M E S 及び 1 M N a C l の 1 5 カラム体積を超える塩勾配より溶出される；

i x) 前記陽イオン交換溶出物が画分で収集され、任意選択的に前記画分がサイズ排除クロマトグラフィーによって分析される；および

x) 少なくとも95%のDsbAを含む陽イオン交換画分がプールされる
のうちの1つまたは複数を含む、請求項1~3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記陽イオン交換材料がスルホプロピル部分を含み、任意選択的に前記スルホプロピル
部分が、架橋ポリ(スチレン-ジビニルベンゼン)マトリックスまたはその等価物に結合
している、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

前記DsbAポリペプチドがEscherichia coli DsbAポリペプチ
ドであり、任意選択的に前記DsbAポリペプチドが配列番号1のアミノ酸配列または配
列番号1のアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項1~
5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

前記DsbAがE. coli細胞で発現され、任意選択的に前記細胞がDsbAの内因
性発現を超えるレベルでDsbAを発現するように操作される、請求項1~6のいずれか
一項に記載の方法。

【請求項8】

精製されたDsbAポリペプチドを含む組成物であって、少なくとも95%の単量体D
sbAポリペプチドを含み、前記組成物が：

a) 2%未満の低分子量種；

b) 1%未満の高分子量種；及び

c) 5%未満の不純物であって、任意選択的に前記不純物が、E. coliタンパク質(
ECP)、DsbA凝集体、DsbA断片、核酸、及び細胞培養培地成分のうちの1つま
たは複数である不純物

のうちの1つまたは複数を含む組成物。

【請求項9】

前記DsbAが1回以上の凍結融解サイクルに対して安定している、請求項8に記載の
組成物。

【請求項10】

前記組成物中の前記DsbAポリペプチドの純度が、クロマトグラフィー、SDSポリ
アクリルアミドゲル電気泳動、またはウエスタンブロット分析のうちの1つ以上によって
測定される、請求項8または9に記載の組成物。

【請求項11】

DsbAに特異的に結合する抗体の精製方法であって、抗DsbA抗体を含む組成物を
支持材料に結合しているDsbAを含むクロマトグラフィー材料と接触させることと、前
記クロマトグラフィー材料を洗浄して、結合していない化合物を除去することと、前記抗
DsbA抗体を溶出させることと、を含み、前記支持材料に結合しているDsbAが、請
求項1~7のいずれか一項に記載の方法により調製される少なくとも95%の単量体D
sbAポリペプチドを含み、任意選択的に前記抗体の1%未満が、非DsbA化合物に特異
的に結合する、前記方法。

【請求項12】

試料中のDsbAの定量化方法であって、検出システムを使用して前記試料中のDsb
Aを検出することと、前記試料中で検出されたDsbAの量をDsbA参照標準の1つ以
上の濃度の検出と比較することと、を含み、前記DsbA参照標準が少なくとも95%の
単量体DsbAポリペプチドを含む、前記方法。

【請求項13】

前記DsbA参照標準が請求項1~7のいずれか一項に記載の方法によって調製される
、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記検出システムが免疫アッセイである、請求項12または13に記載の方法。

【請求項15】

前記免疫アッセイが95%のDsbAに特異的に結合する抗体を含む、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

DsbAの存在及び/または分量についての組換えポリペプチド試料の分析方法であって、免疫アッセイを使用して前記試料中のDsbAを検出することと、前記試料中で検出されたDsbAの量をDsbA参照標準の1つ以上の濃度の検出と比較することと、を含み、前記DsbA参照標準が少なくとも95%の単量体DsbAポリペプチドを含む、前記方法。

【請求項17】

前記DsbA参照標準が請求項1~7のいずれか一項に記載の方法によって調製される、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記免疫アッセイが95%のDsbAに特異的に結合する抗体を含む、請求項16または17に記載の方法。

【請求項19】

95%のDsbAに特異的に結合する前記抗体がポリクローナル抗体であり、DsbAに特異的に結合する前記抗体が前記免疫アッセイにおいて捕捉抗体及び/または検出抗体として使用される、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

DsbAに特異的に結合する前記抗体が請求項11に記載の方法に従って調製される、請求項18または19に記載の方法。

【請求項21】

前記組換えポリペプチドが宿主細胞、任意選択的にE.coli細胞、さらに任意選択的にDsbAを過剰発現するE.coli細胞内で調製される、請求項16~20のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

前記試料が最終組換えポリペプチド精製産物であり、任意選択的に抗体またはイムノアドヘシンである、請求項16~21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項23】

試料中のDsbAの検出のための免疫アッセイであって、前記試料が組換えポリペプチド調製物または宿主細胞株から得られ、前記方法が、

(a) DsbAに結合する捕捉抗体を前記試料と接触させて、それにより試料-捕捉抗体組み合わせ材料を生成することと、

(b) DsbAに結合する検出抗体を前記試料-捕捉抗体組み合わせ材料と接触させることと、

(c) 前記試料-捕捉抗体組み合わせ材料に結合している前記検出抗体を検出することと、

(d) 前記試料中に存在するDsbAの量を、標準滴定曲線をDsbA組成物について生成された標準滴定曲線と比較することによって決定することであって、前記DsbA組成物が少なくとも約95%の単量体DsbAポリペプチドを含む、DsbAの量を決定することと

を含む、前記免疫アッセイ。

【請求項24】

細菌細胞から調製された組換えポリペプチドを含む薬学的組成物の品質アッセイであって、放出アッセイが、前記薬学的組成物の試料を請求項23に記載の免疫アッセイ方法に供することを含み、前記組成物中で検出されたDsbAの量が、前記薬学的組成物が動物への投与に好適であるかを決定する、前記品質アッセイ。

【請求項25】

1ppm未満の前記薬学的組成物中のDsbAの量が、前記薬学的組成物が前記動物への投与に好適であることを示す、請求項24に記載の品質アッセイ。

【請求項 26】

前記細菌細胞が E . c o l i 細胞であり、任意選択的に前記 E . c o l i 細胞が D s b A を過剰発現する、請求項 23 に記載の免疫アッセイまたは請求項 24 もしくは 25 に記載の品質アッセイ。

【請求項 27】

前記試料が細胞溶解物である、請求項 26 に記載の免疫アッセイまたは品質アッセイ。

【請求項 28】

前記組換えポリペプチド調製物が最終精製産物である、請求項 26 または 27 に記載の免疫アッセイまたは品質アッセイ。

【請求項 29】

前記組換えポリペプチド調製物中に含有される前記組換えポリペプチドが抗体またはイムノアドヘシンであり、任意選択的に前記抗体が、多重特異性抗体、二重特異性抗体、半抗体、または抗体断片である、請求項 26 ~ 28 のいずれか一項に記載の免疫アッセイまたは品質アッセイ。

【請求項 30】

細菌細胞から調製された組換えポリペプチドを含む薬学的組成物中の D s b A の検出のためのキットであって、請求項 11 に記載の抗 D s b A 抗体の組成物及び試料中の D s b A を定量するための標準曲線を生成する際の参照標準として使用するための、かつ/または陽性対照として使用するための D s b A を含む組成物を含み、前記 D s b A を含む組成物が請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法によって調製され、かつ少なくとも 95% の単量体 D s b A を含む、前記キット。

专利名称(译)	超纯化的DsbA和DsbC，以及制备和使用它们的方法		
公开(公告)号	JP2018516229A5	公开(公告)日	2019-04-11
申请号	JP2017546779	申请日	2016-03-04
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
当前申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	ウォンマーク イーリリアーナティー リムエイミー フォンクリスピー		
发明人	ウォン, マーク イー, リリアーナ ティー. リム, エイミー フォン, クリス ピー.		
IPC分类号	C07K1/18 G01N30/02 G01N30/88 G01N30/96 G01N33/53 G01N33/536 G01N27/447 C07K16/12 C12Q1/06 B01D15/34 B01D15/36 C07K1/16 C12N1/21 C07K16/46 C12N15/09 C12N9/04		
CPC分类号	A61K38/00 C12N9/0051 C12N9/90 C12Y108/04002 C12Y503/04001 Y02A50/473 C07K1/22 C07K16 /40 G01N33/573 G01N2333/90212 G01N2333/99		
FI分类号	C07K1/18 G01N30/02.ZNA.B G01N30/88.J G01N30/96.B G01N33/53.D G01N33/536.C G01N27/447. 315.J C07K16/12 C12Q1/06 B01D15/34 B01D15/36 C07K1/16 C12N1/21 C07K16/46 C12N15/00.A C12N9/04.Z		
F-TERM分类号	4B050/CC06 4B050/FF11C 4B050/FF12C 4B050/FF13C 4B050/FF16C 4B050/LL01 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ22 4B063/QS28 4B063/QS33 4B063/QS35 4B063/QX02 4B065/AA26X 4B065 /AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/BD50 4B065/CA44 4D017/AA09 4D017/AA11 4D017/BA07 4D017/CA14 4D017/CA17 4D017/CB01 4D017/DA03 4D017/EA05 4H045/AA20 4H045/BA10 4H045 /BA41 4H045/DA89 4H045/FA74 4H045/GA21 4H045/GA31		
优先权	62/129701 2015-03-06 US		
其他公开文献	JP2018516229A		

摘要(译)

本发明提供了以非常高的纯度生产二硫化物氧化还原酶A (DsbA) 和二硫化物氧化还原酶C (DsbC) 多肽的方法。还提供了超纯的DsbA和DsbC及其使用方法，例如用于免疫测定以显示从细菌生产的生物制品中去除了DsbA和DsbC。