

【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】令和1年9月26日(2019.9.26)

【公表番号】特表2018-533355(P2018-533355A)

【公表日】平成30年11月15日(2018.11.15)

【年通号数】公開・登録公報2018-044

【出願番号】特願2018-509536(P2018-509536)

【国際特許分類】

C 1 2 N 9/90 (2006.01)

C 0 7 K 16/12 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 16/24 (2006.01)

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/61 (2006.01)

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 9/90 Z N A

C 0 7 K 16/12

C 0 7 K 16/46

C 0 7 K 16/24

A 6 1 K 47/68

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 C

A 6 1 K 39/395 L

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/53 N

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/61

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】令和1年8月19日(2019.8.19)

【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】

ポリペプチド及び1つ以上の不純物を含む組成物からのポリペプチドの精製方法であって、方法が、

- a) 組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を産生することと、
- b) 親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成することと、
- c) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成することと、
- d) 陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、ポリペプチドを含む画分を収集することと、
- e) 疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、ポリペプチドを含む画分を収集することと、を含み、組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

【請求項 2】

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの多重特異性抗体の精製方法であって、多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、方法が、逐次的に、

- a) 組成物をタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、タンパク質A溶出物を産生するステップと、
- b) タンパク質A溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、
- c) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、
- d) 陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、
- e) 疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

【請求項 3】

多重特異性抗体の精製方法であって、多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、多重特異性抗体の各アームが、別個に産生され、方法が、逐次的に、

- a) 多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を産生するステップと、
- b) 多重特異性抗体を含む組成物を産生するのに十分な条件下で、多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、
- c) 多重特異性抗体を含む組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、
- d) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、
- e) 陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、
- f) 疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

【請求項 4】

混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

多重特異性抗体の精製方法であって、多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アーム

ムが、V H / V L 単位を含み、方法が、逐次的に、

a) 組成物をタンパク質 A クロマトグラフィーに供して、タンパク質 A 溶出物を産生するステップと、

b) タンパク質 A 溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d) 陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーに供し、多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

【請求項 6】

多重特異性抗体の精製方法であって、多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、V H / V L 単位を含み、多重特異性抗体の各アームが、別個に産生され、方法が、逐次的に、

a) 多重特異性抗体の各アームをタンパク質 A クロマトグラフィーに供して、多重特異性抗体の各アームのタンパク質 A 溶出物を産生するステップと、

b) 多重特異性抗体を含む組成物を産生するのに十分な条件下で、多重特異性抗体の各アームのタンパク質 A 溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c) 多重特異性抗体を含む組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

e) 陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーに供し、多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

【請求項 7】

混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

タンパク質 A クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、請求項 2 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

混合モードクロマトグラフィー、及び/または陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、請求項 1 ~ 6 及び 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、請求項 5 または 6 に記載の方法。

【請求項 12】

ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含むヒドロキシアパタイト相互作用クロマトグラフィー画分を限外濾過に供するステップを更に含む、請求項 5 または 6 に記載の方法。

【請求項 13】

ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む陽イオン交換画分を限外濾過に供するステップを更に含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含むヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー画分を限外濾過に供するステップを更に含む、請求項 5、6、及び 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

限外濾過が、第1の限外濾過、透析濾過、及び第2の限外濾過を逐次的に含む、請求項12～14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

タンパク質Aクロマトグラフィーが、アガロースに結合しているタンパク質Aを含む、請求項2～15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

タンパク質Aクロマトグラフィーが、MAbSelect(商標)、MAbSelect(商標)SuRe、及びMAbSelect(商標)SuRe LX、Prosep-V A、Prosep-V A Ultra Plus、Protein A Sepharose(登録商標)fast flow、またはTyopearl Protein Aクロマトグラフィーである、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

混合モードクロマトグラフィーが、四級アミン及び疎水性部分、四級アミン及び高架橋アガロースに結合している疎水性部分、またはN-ベンジル-n-メチルエタノールアミンを含む、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

混合モードクロマトグラフィーが、Captor(商標)adhereクロマトグラフィーである、請求項18に記載の方法。

【請求項 20】

疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC)が、疎水性部分を含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

疎水性相互作用クロマトグラフィーが、フェニル部分、フェニル部分架橋アガロース、または架橋アガロースに結合しているブチル部分を含む、請求項20に記載の方法。

【請求項 22】

疎水性相互作用クロマトグラフィーが、phenyl Sepharose(登録商標)クロマトグラフィーまたはButyl Sepharose(登録商標)クロマトグラフィーである、請求項20に記載の方法。

【請求項 23】

疎水性相互作用クロマトグラフィーが、ヘキシル部分、ヒドロキシル化メタクリルポリマーに結合している疎水性部分、またはヒドロキシル化メタクリルポリマーに結合しているヘキシル部分を含む、請求項20～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

疎水性相互作用クロマトグラフィーが、TOYOPEARL(登録商標)Hexyl 650Cである、請求項20～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーである、請求項5、6、11、及び15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、CHT I型セラミックヒドロキシアパタイト(hydroxyapatite)クロマトグラフィーである、請求項25に記載の方法。

【請求項 27】

陽イオン交換クロマトグラフィーが、カルボン酸部分、スルホン酸部分、カルボン酸部分架橋アガロース、または架橋アガロースに結合しているスルホン酸部分を含む、請求項1～24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

陽イオン交換材料が、POROS(登録商標)HS50、POROS(登録商標)HS20、SO3 Monolith、S Ceramic HyperD、スルホプロピル

- Sepharose (登録商標) Fast Flow (SPSFF)、SP-Sepharose (登録商標) XL (SPXL)、CM Sepharose (登録商標) Fast Flow、Capto (商標) S、Fractogel Se HiCap、Fractogel SO3、またはFractogel COOである、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

ポリペプチドまたは多重特異性抗体、または多重特異性抗体のアームが、細胞内で産生される、請求項1~28のいずれか一項に記載の方法。

【請求項30】

細胞が、原核生物細胞である、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

原核生物細胞が、E. coli細胞である、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

細胞が、1つ以上のシャペロンを発現するように操作される、請求項30に記載の方法

。

【請求項33】

シャペロンが、FkpA、DsbA、またはDsbCのうちの1つ以上である、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

多重特異性抗体が、二重特異性抗体である、請求項1~33のいずれか一項に記載の方法。

【請求項35】

多重特異性抗体の第1のアームが、IL13に結合する、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

IL13が、ヒトIL13である、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

IL13が、配列番号1または配列番号2のアミノ酸配列を含む、請求項35または36に記載の方法。

【請求項38】

(a) 多重特異性抗体の第1のアームが、配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、

(b) 多重特異性抗体の第1のアームが、配列番号13のアミノ酸配列を含むVH配列、及び配列番号14のアミノ酸配列を含むVL配列を含む、または

(c) 多重特異性抗体の第1のアームが、配列番号15、16、または17のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項35~37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項39】

抗体の第2のアームが、IL17に結合する、請求項34~38のいずれか一項に記載の方法。

【請求項40】

IL17が、ヒトIL17である、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

IL17が、配列番号3、配列番号4、配列番号5、または配列番号6のアミノ酸配列を含む、請求項39または40に記載の方法。

【請求項42】

a) 多重特異性抗体の第2のアームが、配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含

む、

b) 多重特異性抗体の第2のアームが、配列番号25のアミノ酸配列を含むVH配列、及び配列番号26のアミノ酸配列を含むVL配列を含む、または

c) 多重特異性抗体の第2のアームが、配列番号27、28、または29のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項39に記載の方法。

【請求項43】

請求項1～42のいずれか一項に記載の方法によって精製されたポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む、組成物であって、約5%、4%、3%、2%、または1%以下の産物特異的不純物を含む、組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0577

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0577】

その後、pH5.5に調整したQSFF溶出物を、貫流モードでPhenyl Sepharose（登録商標）HSクロマトグラフィーに供した。貫流Phenyl Sepharose（登録商標）6Fast Flow（高置換）HIC条件は、以下の通りであった。カラムを170mMの酢酸塩（pH5.5）で平衡化した。調整したQSFF溶出物プールをカラムに装填した。二重特異性抗体を貫流させ、その後、カラムを平衡化緩衝液で洗浄した。産物プール収集を開始し、280nmでの吸光度に基づいて終結させた。その後、Phenyl Sepharose（登録商標）プールを濃縮し、限外濾過/透析濾過（UF/DF）を使用して緩衝液交換した。非対合半抗体、ホモ二量体、低分子量種（LMWS）、高分子量種（HMWS）、超高分子量種（vHMWS）、酸性変異形、塩基性変異形、FkpA、DsbA、DsbC、ECP、浸出タンパク質A、Ecoli DNA、及び内毒素を含む不純物の存在について、抗A/抗B二重特異性抗体を分析した。産物品質及び（収率%によって示される）プロセス性能を表35に詳述する。表35。抗A/抗B産物品質及びプロセス性能

ステップ	α A MSS	α B MSS	組み立 て	C a p t o (商標) A d h e r e	Q S F F	P h e n y l S e p h a r o s e (登録商 標)	U F D F
収率 (%)	77	75	85	77	85	84	80
E C P (p p m)	118 17	109 96	344 7	94	44	26	16
F k p A (p p m)	333 1	275 1	184 1	1265	216	8	8
D s b A (p p m)	59	29	28	5	1	1	0.3
D s b C (p p m)	94	144	122	4	9	2	0.1
SEC -合計 HMW S (%)	4.2	12. 0	14. 4	7.4	1.4	0.2	0.7
SEC -主要 (%)	18. 1	29. 4	85. 1	92.6	98. 5	99.8	99. 3
SEC -LM WS (%)	77. 3	58. 5	0.5	0	0.0 9	0	0
純度、 NR- CE- SDS (%)	83. 5	71. 1	86. 9	92.6	96. 4	97	97

配列

別途表記されない限り、アミノ酸配列はN末端からC末端で提示され、核酸配列は5'から3'で提示される。

E . c o l i F k p A

アミノ酸配列 - リーダー配列なし

A F A D K S K L S D Q E I E Q T L Q A F E A R V K S S A Q A K M E K D A A D N E

A K G K E Y R E K F A K E K G V K T S S T G L V Y Q V V E A G K G E A P K D S D
 T V V V N Y K G T L I D G K E F D N S Y T R G E P L S F R L D G V I P G W T E G
 L K N I K K G G K I K L V I P P E L A Y G K A G V P G I P P N S T L V F D V E L
 L D V K P A P K A D A K P E A D A K A A D S A K K

(配列番号1)

アミノ酸配列 - 全配列

M K S L F K V T L L A T T M A V A L H A P I T F A A E A A K P A T T A D S K A A
 F K N D D Q K S A Y A L G A S L G R Y M E N S L K E Q E K L G I K L D K D Q L I
 A G V Q D A F A D K S K L S D Q E I E Q T L Q A F E A R V K S S A Q A K M E K D
 A A D N E A K G K E Y R E K F A K E K G V K T S S T G L V Y Q V V E A G K G E A
 P K D S D T V V V N Y K G T L I D G K E F D N S Y T R G E P L S F R L D G V I P
 G W T E G L K N I K K G G K I K L V I P P E L A Y G K A G V P G I P P N S T X V
 F D V E L L D V K P A P K A D A K P E A D A K A A D S A K K

(配列番号2)

核酸配列

a t g a a a t c a c t g t t t a a a g t a a c g c t g c t g g c g a c c a c a a
 t g g c c g t t g c c c t g c a t g c a c c a a t c a c t t t t g c t g c t g a
 a g c t g c a a a a c c t g c t a c a g c t g c t g a c a g c a a a g c a g c g
 t t c a a a a a t g a c g a t c a g a a a t c a g c t t a t g c a c t g g g t g
 c c t c g c t g g g t c g t t a c a t g g a a a a c t c t c t a a a a g a a c a
 a g a a a a a c t g g g c a t c a a a c t g g a t a a a g a t c a g c t g a t c
 g c t g g t g t t c a g g a t g c a t t t g c t g a t a a g a g c a a a c t c t
 c c g a c c a a g a g a t c g a a c a g a c t c t a c a a g c a t t c g a a g c
 t c g c g t g a a g t c t t c t g c t c a g g c g a a g a t g g a a a a a g a c
 g c g g c t g a t a a c g a a g c a a a a g g t a a a g a g t a c c g c g a g a
 a a t t t g c c a a a g a g a a a g g t g t g a a a a c c t c t t c a a c t g g
 t c t g g t t t a t c a g g t a g t a g a a g c c g g t a a a g g c g a a g c a
 c c g a a a g a c a g c g a t a c t g t t g t a g t g a a c t a c a a a g g t a
 c g c t g a t c g a c g g t a a a g a g t t c g a c a a c t c t t a c a c c c g
 t g g t g a a c c g c t t t c t t t c c g t c t g g a c g g t g t t a t c c c g
 g g t t g g a c a g a a g g t c t g a a g a a c a t c a a g a a a g g c g g t a
 a g a t c a a a c t g g t t a t t c c a c c a g a a c t g g c t t a c g g c a a
 a g c g g g t g t t c c g g g a t c c c a c c g a a t t c t a c c c t g g t g
 t t t g a c g t a g a g c t g c t g g a t g t g a a a c c a g c g c c g a a g g
 c t g a t g c a a a g c c g g a a g c t g a t g c g a a a g c c g c a g a t t c
 t g c t a a a a a a t a a

(配列番号3)

< 本発明の更なる実施態様 >

[実施態様 1]

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

a) 遠心分離により前記細胞溶解物を浄化することと、

b) 前記 F k p A ポリペプチドを含む前記浄化された細胞溶解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、

c) 前記陽イオン交換クロマトグラフィー材料から前記 F k p A ポリペプチドを溶出させて、前記 F k p 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、

d) 前記 F k p A ポリペプチドを含む前記陽イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィー (H I C) 材料に適用することと、

e) 前記 H I C 材料から前記 F k p A ポリペプチドを溶出させて、H I C 溶出物を生成することと、

f) 前記 F k p A ポリペプチドを含む前記 H I C 溶出物をサイズ排除クロマトグラフィーに適用することと、

g) 前記サイズ排除クロマトグラフィーから前記 F k p A ポリペプチドを溶出させることと、を含む、前記方法。

[実施態様 2]

前記 F k p A ポリペプチドを含む前記溶解物が、約 pH 6 . 0 である、実施態様 1 に記載の方法。

[実施態様 3]

前記陽イオン交換クロマトグラフィー材料が、強陽イオン交換体である、実施態様 1 または 2 に記載の方法。

[実施態様 4]

前記強陽イオン交換体が、スルホプロピル基を含む、実施態様 3 に記載の方法。

[実施態様 5]

前記スルホプロピル基が、架橋アガロースに結合している、実施態様 4 に記載の方法。

[実施態様 6]

前記陽イオン交換材料が、溶出前に 2 5 m M の 2 - (N - モルフィリノ (m o r p h i l i n o)) エタンスルホン酸 (M E S) 中で洗浄される、実施態様 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 7]

前記 F k p A が、塩勾配を使用して前記陽イオンクロマトグラフィー材料から溶出される、実施態様 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 8]

前記塩勾配が、線形勾配である、実施態様 7 に記載の方法。

[実施態様 9]

前記塩勾配が、9 カラム体積にわたって、2 5 m M の M E S 、 3 0 0 m M の N a C l から 2 5 m M の M E S 、 3 0 0 m M の N a C l までの 0 ~ 3 0 % の勾配である、実施態様 8 に記載の方法。

[実施態様 1 0]

前記陽イオン交換溶出物が、画分で収集される、実施態様 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 1 1]

前記画分が、疎水性相互作用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、実施態様 1 0 に記載の方法。

[実施態様 1 2]

少なくとも約 2 5 % の F k p A を含む画分が、更なる精製のために選択される、実施態様 1 1 に記載の方法。

[実施態様 1 3]

前記 H I C 材料が、ブチル部分を含む、実施態様 1 ~ 1 2 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 1 4]

前記ブチル部分が、架橋アガロースに結合している、実施態様 1 3 に記載の方法。

[実施態様 1 5]

前記陽イオン交換溶出物が、H I C 前に約 0 . 6 M の硫酸ナトリウム及び約 5 0 m M の P O ₄ (約 pH 7) を含有するように調整される、実施態様 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 1 6]

前記 F k p A 結合 H I C 材料が、溶出前に 4 0 m M のリン酸塩、3 0 0 m M の硫酸ナトリウム (pH 7 . 0) で洗浄される、実施態様 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 1 7]

前記 F k p A が、水を使用して前記 H I C 材料から溶出される、実施態様 1 ~ 1 6 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 18]

前記 H I C 溶出物が、画分で収集される、実施態様 1 ~ 16 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 19]

F k p A を含む画分が、プールされる、実施態様 18 に記載の方法。

[実施態様 20]

少なくとも約 25% の F k p A を含む画分が、プールされる、実施態様 19 に記載の方法。

[実施態様 21]

前記サイズ排除クロマトグラフィー材料が、架橋アガロースとデキストランとの球状複合体を含む、実施態様 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 22]

前記サイズ排除貫流物が、画分で収集される、実施態様 1 ~ 21 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 23]

前記 H I C 溶出物が、サイズ排除クロマトグラフィー前に濃縮される、実施態様 1 ~ 22 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 24]

前記 H I C 溶出物が、サイズ排除クロマトグラフィー前に約 6 倍 ~ 約 10 倍に濃縮される、実施態様 23 に記載の方法。

[実施態様 25]

F k p A を含むサイズ排除画分が、プールされる、実施態様 22 ~ 24 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 26]

前記 F k p A ポリペプチドが、*Escherichia coli* F k p A ポリペプチドである、実施態様 1 ~ 25 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 27]

前記 F k p A ポリペプチドが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、実施態様 26 に記載の方法。

[実施態様 28]

前記 F k p A ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% の同一性を含む、実施態様 27 に記載の方法。

[実施態様 29]

前記 F k p A が、細胞で発現される、実施態様 1 ~ 28 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 30]

前記細胞が、原核生物細胞である、実施態様 29 に記載の方法。

[実施態様 31]

前記細胞が、*E. coli* 細胞である、実施態様 29 または 30 に記載の方法。

[実施態様 32]

前記細胞が、F k p A の内因性発現を超えるレベルで F k p A を発現するように操作される、実施態様 29 ~ 31 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 33]

前記細胞が、微小流動化剤を使用して溶解される、実施態様 1 ~ 32 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 34]

実施態様 1 ~ 33 のいずれかに記載の方法によって精製された F k p A ポリペプチドを含む組成物。

[実施態様 35]

精製された F k p A ポリペプチドを含む組成物であって、少なくとも約 98% の単量体 F k p A ポリペプチドを含む、前記組成物。

[実施態様 3 6]

前記組成物が、約 2 % 未満の低分子量種を含む、実施態様 3 5 に記載の組成物。

[実施態様 3 7]

前記組成物が、約 5 % 以下の高分子量種を含む、実施態様 3 5 または 3 6 に記載の組成物。

[実施態様 3 8]

単量体 F k p A ポリペプチドの割合が、サイズ排除クロマトグラフィーによって検出される、実施態様 3 5 ~ 3 7 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 3 9]

前記組成物が、約 5 %、約 4 %、約 3 %、約 2 %、または約 1 % 未満の不純物を含む、実施態様 3 8 に記載の組成物。

[実施態様 4 0]

前記不純物が、F k p A に対して高分子量及び/または低分子量のポリペプチド種である、実施態様 3 9 に記載の組成物。

[実施態様 4 1]

前記不純物が、E . c o l i タンパク質 (E C P)、F k p A 凝集体、F k p A 断片、核酸、または細胞培養培地成分のうちの一つ以上である、実施態様 3 9 または 4 0 に記載の組成物。

[実施態様 4 2]

前記 F k p A が、1 回以上の凍結融解サイクルに対して安定している、実施態様 3 4 ~ 4 1 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 4 3]

前記 F k p A が、3 回の凍結融解サイクルに対して安定している、実施態様 4 2 に記載の組成物。

[実施態様 4 4]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの純度が、クロマトグラフィー、S D S 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一つ以上によって測定される、実施態様 3 4 ~ 4 3 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 4 5]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの純度が、高性能液体クロマトグラフィー (H P L C) によって測定される、実施態様 3 4 ~ 4 4 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 4 6]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの純度が、サイズ排除クロマトグラフィー (S E C) によって測定される、実施態様 3 4 ~ 4 5 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 4 7]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの純度が、蛍光画像化または銀染色を使用して S D S ゲル電気泳動によって測定される、実施態様 3 4 ~ 4 4 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 4 8]

前記組成物中の非 F k p A ポリペプチドの存在が、ウエスタンブロット分析により示される抗 F k p A 抗体と免疫反応しないゲル電気泳動によって特定される種の存在によって特定される、実施態様 4 7 に記載の組成物。

[実施態様 4 9]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの凝集体の存在が、ウエスタンブロット分析により、前記天然 F k p A を超える分子量を有する種の存在によって特定される、実施態様 4 8 に記載の組成物。

[実施態様 5 0]

F k p A に特異的に結合する抗体の生成方法であって、動物を、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれかーに記載の方法によって精製された F k p A を含む組成物に曝露または免疫化することを含む、前記方法。

[実施態様 5 1]

F k p A に特異的に結合する抗体の生成方法であって、動物を実施態様 3 4 ~ 4 9 のいずれか一に記載の組成物に曝露または免疫化することを含む、前記方法。

[実施態様 5 2]

前記動物から血清を収集することを更に含み、前記血清が F k p A に特異的に結合する抗体を含む、実施態様 5 0 または 5 1 に記載の方法。

[実施態様 5 3]

前記血清が、F k p A に特異的に結合するポリクローナル抗体を含む、実施態様 5 2 に記載の方法。

[実施態様 5 4]

1 つ以上のモノクローナル抗体が、前記血清から単離される、実施態様 5 2 または 5 3 に記載の方法。

[実施態様 5 5]

前記動物が、ヤギ、ウサギ、マウス、モルモット、ハムスター、ラット、ロバ、またはニワトリである、実施態様 5 0 ~ 5 4 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 5 6]

F k p A に特異的に結合するポリクローナル抗体を含む組成物であって、前記ポリクローナル抗体が、動物を、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって精製された F k p A を含む組成物に免疫化することによって生成される、前記組成物。

[実施態様 5 7]

F k p A に特異的に結合するポリクローナル抗体を含む組成物であって、前記ポリクローナル抗体が、動物を、実施態様 3 4 ~ 4 9 のいずれか一に記載の組成物に免疫化することによって生成される、前記組成物。

[実施態様 5 8]

前記ポリクローナル抗体が、前記動物の血清から収集される、実施態様 5 6 または 5 7 に記載の組成物。

[実施態様 5 9]

F k p A に特異的に結合するモノクローナル抗体を含む組成物であって、前記モノクローナル抗体が、動物を、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって精製された F k p A を含む組成物に免疫化することによって生成される、前記組成物。

[実施態様 6 0]

F k p A に特異的に結合するモノクローナル抗体を含む組成物であって、前記モノクローナル抗体が、動物を、実施態様 3 4 ~ 4 9 のいずれか一に記載の組成物に免疫化することによって生成される、前記組成物。

[実施態様 6 1]

前記動物が、ヤギ、ウサギ、マウス、モルモット、ハムスター、ラット、ロバ、またはニワトリである、実施態様 5 6 ~ 6 0 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 6 2]

F k p A に特異的に結合する抗体の精製方法であって、抗 F k p A 抗体を含む、実施態様 5 6 ~ 6 1 のいずれか一に記載の組成物を、約 6 0 % の最終濃度の硫酸アンモニウムになるまで、硫酸アンモニウムと接触させることと、前記溶液を遠心分離することと、前記上清を除去することと、前記ペレットをリン酸緩衝液中に溶解することと、を含む、前記方法。

[実施態様 6 3]

前記リン酸緩衝液が、約 5 0 m M のリン酸ナトリウム (約 p H 7 . 0) を含む、実施態様 6 2 に記載の方法。

[実施態様 6 4]

F k p A に特異的に結合する抗体の精製方法であって、
a) 抗 F k p A 抗体を含む、実施態様 5 6 ~ 6 1 のいずれか一に記載の組成物を、約 6 0 % の最終濃度の硫酸アンモニウムになるまで、硫酸アンモニウムと接触させることと、

前記溶液を遠心分離することと、前記上清を除去することと、前記ペレットをリン酸緩衝液中に溶解して、抗 F k p A 抗体溶液を生成することと、

b) 前記抗 F k p A 抗体溶液を親和性クロマトグラフィー材料に適用することと、

c) 前記親和性材料から前記抗体を溶出させて、前記抗 F k p A 抗体を含む親和性溶出物を生成することと、

d) 前記硫酸アンモニウム上清をサイズ排除クロマトグラフィーに供することと、e) 前記サイズ排除クロマトグラフィーから、前記精製された抗体を含む画分を収集することと、を含む、前記方法。

[実施態様 65]

前記リン酸緩衝液が、約 50 mM のリン酸ナトリウム (約 pH 7.0) を含む、実施態様 64 に記載の方法。

[実施態様 66]

前記親和性クロマトグラフィー材料が、クロマトグラフィー培地に結合している F k p A を含む、実施態様 64 または 65 に記載の方法。

[実施態様 67]

前記クロマトグラフィー培地が、架橋デキストランである、実施態様 66 に記載の方法。

[実施態様 68]

前記 F k p A が、実施態様 1 ~ 33 のいずれかーに記載の方法によって精製される、実施態様 66 または 67 に記載の方法。

[実施態様 69]

前記 F k p A が、実施態様 34 ~ 49 のいずれかーに記載の組成物に由来する、実施態様 66 または 67 に記載の方法。

[実施態様 70]

前記 F k p A が、前記クロマトグラフィー培地に共有結合している、実施態様 66 ~ 69 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 71]

前記 F k p A が、グリセリル - 制御孔ガラスカラム (グリセリル - C P G) を使用して前記クロマトグラフィー培地に結合している、実施態様 66 ~ 70 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 72]

前記抗 F k p A 抗体が、前記親和性カラムから溶出される、実施態様 64 ~ 71 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 73]

前記サイズ排除クロマトグラフィー材料が、架橋アガロースとデキストランとの球状複合体を含む、実施態様 64 ~ 72 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 74]

架橋アガロースとデキストランとの前記球状複合体が、10,000 ダルトン ~ 600,000 ダルトンの分子量を有する分子の分離範囲を有する、実施態様 73 に記載の方法。

[実施態様 75]

前記サイズ排除貫流物が、画分で収集される、実施態様 64 ~ 74 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 76]

抗 F k p A 抗体を含むサイズ排除画分が、プールされる、実施態様 75 に記載の方法。

[実施態様 77]

前記抗体が、ポリクローナル抗体である、実施態様 64 ~ 76 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 78]

前記抗体が、実施態様 50 ~ 55 のいずれかーに記載の方法に従って調製される、実施

態様 64 ~ 77 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 79]

前記抗体の約 1 % 未満が、非 F k p A 化合物に特異的に結合する、実施態様 64 ~ 78 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 80]

実施態様 62 ~ 79 のいずれかーに記載の方法によって精製された、単離された抗 F k p A 抗体。

[実施態様 81]

試料中の F k p A 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 F k p A を検出することと、前記試料中で検出された F k p A の量を 1 つ以上の濃度の超高純度 F k p A 参照標準物の検出と比較することと、を含む、前記方法。

[実施態様 82]

前記超高純度 F k p A 参照標準物が、少なくとも約 95 %、約 96 %、約 97 %、または約 98 % の単量体 F k p A ポリペプチドを含む、実施態様 81 に記載の方法。

[実施態様 83]

前記超高純度 F k p A 参照標準物が実施態様 1 ~ 33 のいずれかーに記載の方法によって調製され、実施態様 34 ~ 49 のいずれかーに記載の F k p A 組成物を含む、実施態様 81 または 82 に記載の方法。

[実施態様 84]

前記検出システムが、免疫アッセイである、実施態様 81 ~ 83 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 85]

前記免疫アッセイが、超高純度 F k p A 参照標準物に特異的に結合する抗体を含む、実施態様 84 に記載の方法。

[実施態様 86]

F k p A 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 F k p A を検出することと、前記試料中で検出された F k p A の量を 1 つ以上の濃度の超高純度 F k p A 参照標準物の検出と比較することと、を含む、前記方法。

[実施態様 87]

前記超高純度 F k p A 参照標準物が、少なくとも約 98 % の単量体 F k p A ポリペプチドを含む、実施態様 86 に記載の方法。

[実施態様 88]

前記超高純度 F k p A 参照標準物が、実施態様 1 ~ 33 のいずれかーに記載の方法によって調製される、実施態様 86 または 87 に記載の方法。

[実施態様 89]

前記免疫アッセイが、超高純度 F k p A に特異的に結合する抗体を含む、実施態様 84 ~ 88 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 90]

前記超高純度 F k p A 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る、実施態様 89 に記載の方法。

[実施態様 91]

前記超高純度 F k p A 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として使用される、実施態様 89 または 90 に記載の方法。

[実施態様 92]

超高純度 F k p A に特異的に結合する前記抗体が、検出抗体として使用される、実施態様 89 ~ 91 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 93]

前記検出抗体が、検出剤にコンジュゲートされる、実施態様 92 に記載の方法。

[実施態様 94]

検出剤が、西洋ワサビペルオキシダーゼである、実施態様 89 ~ 93 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 95]

F k p A に特異的に結合する前記抗体が、実施態様 56 ~ 61 のいずれかーに記載の組成物中に含まれるか、または実施態様 50 ~ 55 のいずれかーに記載の方法に従って調製される、実施態様 89 ~ 94 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 96]

前記 F k p A が、E . c o l i F k p A である、実施態様 81 ~ 95 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 97]

前記試料が、宿主細胞内で調製される組換えポリペプチドを含む、実施態様 81 ~ 96 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 98]

前記宿主細胞が、E . c o l i 細胞である、実施態様 97 に記載の方法。

[実施態様 99]

前記宿主細胞が、F k p A を過剰発現する、実施態様 97 または 98 に記載の方法。

[実施態様 100]

前記試料が、細胞溶解物である、実施態様 81 ~ 99 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 101]

前記試料が、組換えポリペプチド調製物から得られ、前記組換えポリペプチド調製物が、1 つ以上のクロマトグラフィー精製ステップに供されている、実施態様 81 ~ 100 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 102]

前記組換えポリペプチド調製物が、最終精製産物である、実施態様 101 に記載の方法。

[実施態様 103]

前記組換えポリペプチド試料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る、実施態様 81 ~ 102 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 104]

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、実施態様 103 に記載の方法。

[実施態様 105]

前記組換えポリペプチドが、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 である、実施態様 103 または 104 に記載の方法。

[実施態様 106]

試料中の F k p A の検出のための免疫アッセイ方法であって、前記試料が、宿主細胞株に由来する組換えポリペプチド調製物から得られ、前記方法が、

(a) F k p A 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) F k p A 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抗体を検出することと、を含む、前記方法。

[実施態様 107]

標準滴定曲線を使用して結合している前記検出抗体のレベルを定量化することを更に含む、実施態様 106 に記載の方法。

[実施態様 108]

結合している前記検出抗体のレベルに基づいて、前記試料中に存在する F k p A の量を計算することを更に含む、実施態様 107 に記載の方法。

[実施態様 109]

前記試料中に存在する F k p A の前記量が、前記標準滴定曲線を超高純度 F k p A 組成物で生成された標準滴定曲線と比較することによって決定される、実施態様 1 0 8 に記載の方法。

[実施態様 1 1 0]

前記超高純度 F k p A 組成物が、少なくとも約 9 8 % の単量体 F k p A ポリペプチドを含む、実施態様 1 0 9 に記載の方法。

[実施態様 1 1 1]

前記組成物中の前記超高純度 F k p A が、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって調製される、実施態様 1 0 9 または 1 1 0 に記載の方法。

[実施態様 1 1 2]

前記捕捉抗体が、前記超高純度 F k p A に特異的に結合する、実施態様 1 0 6 ~ 1 1 1 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 1 3]

前記検出抗体が、前記超高純度 F k p A に特異的に結合する、実施態様 1 0 6 ~ 1 1 2 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 1 4]

前記超高純度 F k p A 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る、実施態様 1 1 2 または 1 1 3 に記載の方法。

[実施態様 1 1 5]

F k p A に結合する前記第 2 の検出抗体が西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートされる、実施態様 1 0 6 ~ 1 1 4 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 1 6]

前記ポリクローナル抗体が、実施態様 5 0 ~ 5 5 のいずれか一に記載の方法に従って生成される、実施態様 1 0 6 ~ 1 1 5 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 1 7]

前記免疫アッセイが、サンドイッチアッセイである、実施態様 1 0 6 ~ 1 1 6 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 1 8]

前記サンドイッチアッセイが、酵素結合免疫吸着アッセイ (E L I S A) である、実施態様 1 1 7 に記載の方法。

[実施態様 1 1 9]

前記 F k p A が、E . c o l i F k p A である、実施態様 1 0 6 ~ 1 1 8 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 2 0]

前記宿主細胞株に由来する前記組換えポリペプチド調製物が、E . c o l i から得られる、実施態様 1 0 6 ~ 1 1 9 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 2 1]

前記宿主細胞株が、外因性 F k p A を過剰発現する、実施態様 1 2 0 に記載の方法。

[実施態様 1 2 2]

前記試料が、細胞溶解物である、実施態様 1 0 6 ~ 1 2 1 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 2 3]

前記試料が、前記組換えポリペプチド調製物から得られ、前記組換えポリペプチド調製物が、1 つ以上のクロマトグラフィー精製ステップに供されている、実施態様 1 0 6 ~ 1 2 2 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 2 4]

前記組換えポリペプチド調製物が、最終精製産物である、実施態様 1 2 3 に記載の方法。

[実施態様 1 2 5]

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る、実施態様 1 0 6 ~ 1 2 4 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 2 6]

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、実施態様 1 2 5 に記載の方法。

[実施態様 1 2 7]

前記組換えポリペプチドが、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 である、実施態様 1 2 5 または 1 2 6 に記載の方法。

[実施態様 1 2 8]

前記組換えポリペプチドが、I L 1 3 に結合する第 1 の結合ドメイン、及び I L 1 7 に結合する第 2 の結合ドメインを含む二重特異性抗体である、実施態様 1 2 5 に記載の方法。

[実施態様 1 2 9]

前記 I L 1 3 が、配列番号 4 または配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、実施態様 1 2 8 に記載の方法。

[実施態様 1 3 0]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、実施態様 1 2 8 または 1 2 9 に記載の方法。

[実施態様 1 3 1]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む V H 配列、及び配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 1 2 8 ~ 1 3 0 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 3 2]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 1 2 8 ~ 1 3 1 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 3 3]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 1 2 8 ~ 1 3 2 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 3 4]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 1 2 8 ~ 1 3 3 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 3 5]

前記 I L 1 7 が、ヒト I L 1 7 である、実施態様 1 2 8 ~ 1 3 4 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 3 6]

第 2 の結合ドメインが、ヒト I L 1 7 A A、I L 1 7 F F、及び I L 1 7 A F に結合する、実施態様 1 2 8 ~ 1 3 5 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 3 7]

前記 I L 1 7 A が、配列番号 6 または配列番号 7 のアミノ酸配列を含み、前記 I L 1 7 F が、配列番号 8 または配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、実施態様 1 2 8 ~ 1 3 6 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 3 8]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 2 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、実施態様 1 2 8 ~ 1 3 7 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 1 3 9]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む

V H 配列、及び配列番号 22 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 128 ~ 138 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 140]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 128 ~ 139 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 141]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 128 ~ 140 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 142]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 128 ~ 141 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 143]

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、前記薬学的組成物の試料を実施態様 106 ~ 142 のいずれかーに記載の免疫アッセイ方法に供して、前記薬学的組成物中の F k p A の存在または量を検出することを含む、前記品質アッセイ。

[実施態様 144]

約 30 p p m、約 25 p p m、約 20 p p m、約 15 p p m、約 14 p p m、約 13 p p m、約 12 p p m、約 11 p p m、約 10 p p m、約 9 p p m、約 8 p p m、約 7 p p m、約 6 p p m、約 5 p p m、約 4 p p m、約 3 p p m、約 2 p p m、約 1 p p m、約 0.9 p p m、約 0.8 p p m、約 0.7 p p m、約 0.6 p p m、約 0.5 p p m、約 0.4 p p m、約 0.3 p p m、約 0.2 p p m、または約 0.1 p p m 以下の前記薬学的組成物中の F k p A の量である、実施態様 143 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 145]

前記細菌細胞が、E . c o l i 細胞である、実施態様 143 または 144 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 146]

前記細菌細胞が、外因性 F k p A を過剰発現する、実施態様 143 ~ 145 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 147]

前記試料が、細胞溶解物である、実施態様 143 ~ 146 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 148]

前記試料が、前記組換えポリペプチド調製物から得られ、前記組換えポリペプチド調製物が、1 つ以上のクロマトグラフィー精製ステップに供されている、実施態様 143 ~ 147 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 149]

前記組換えポリペプチド調製物が、最終精製産物である、実施態様 148 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 150]

前記組換えポリペプチドが、抗体またはイムノアドヘンシである、実施態様 143 ~ 149 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 151]

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、実施態様 150 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 152]

前記組換えポリペプチドが、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 である、実施態様 151 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 153]

前記組換えポリペプチドが、I L 13 に結合する第 1 の結合ドメイン、及び I L 17 に

結合する第 2 の結合ドメインを含む二重特異性抗体である、実施態様 1 5 1 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 5 4]

前記 I L 1 3 が、配列番号 4 または配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、実施態様 1 5 3 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 5 5]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、実施態様 1 5 3 または 1 5 4 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 5 6]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む V H 配列、及び配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 5 5 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 5 7]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 5 6 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 5 8]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 5 7 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 5 9]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 5 8 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 6 0]

前記 I L 1 7 が、ヒト I L 1 7 である、実施態様 1 5 3 ~ 1 5 9 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 6 1]

第 2 の結合ドメインが、ヒト I L 1 7 A A、I L 1 7 F F、及び I L 1 7 A F に結合する、実施態様 1 5 3 ~ 1 5 9 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 6 2]

前記 I L 1 7 A が、配列番号 6 または配列番号 7 のアミノ酸配列を含み、前記 I L 1 7 F が、配列番号 8 または配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 6 1 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 6 3]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 2 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 6 2 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 6 4]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H 配列、及び配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 6 3 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 6 5]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 6 4 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 1 6 6]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 1 5 3 ~ 1 6 5 のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 167]

前記二重特異性抗体の前記第2の結合ドメインが、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様153～166のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 168]

前記薬学的組成物中のDsbA及び/またはDsbCの量を検出するステップを更に含む、実施態様153～167のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 169]

DsbAの量が、約5ppm、約4ppm、約3ppm、約2ppm、約1ppm、約0.9ppm、約0.8ppm、約0.7ppm、約0.6ppm、約0.5ppm、約0.4ppm、約0.3ppm、約0.2ppm、または約0.1ppm以下である、実施態様168に記載の品質アッセイ。

[実施態様 170]

DsbCの量が、約5ppm、約4ppm、約3ppm、約2ppm、約1ppm、約0.9ppm、約0.8ppm、約0.7ppm、約0.6ppm、約0.5ppm、約0.4ppm、約0.3ppm、約0.2ppm、または約0.1ppm以下である、実施態様168または169に記載の品質アッセイ。

[実施態様 171]

DsbA及び/またはDsbCの量が、免疫アッセイによって測定される、実施態様168～170のいずれかーに記載の品質アッセイ。

[実施態様 172]

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FkpAの検出のためのキットであって、実施態様50～55のいずれかーに記載の方法によって調製された抗FkpA抗体、または実施態様56～61のいずれかーに記載の抗FkpA抗体の組成物を含む、前記キット。

[実施態様 173]

前記キットが、試料中のFkpAを定量するための標準曲線を生成する際の参照標準物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超高純度FkpAを更に含む、実施態様172に記載のキット。

[実施態様 174]

前記超高純度FkpAが、実施態様1～33のいずれかーに記載の方法に従って調製される、実施態様172に記載のキット。

[実施態様 175]

組換えポリペプチドを含む組成物であって、前記組換えポリペプチドが、内因性FkpAを発現する宿主細胞内で産生され、前記組成物が、約6ppm、約5ppm、約4ppm、約3ppm、約2ppm、約1ppm、約0.9ppm、約0.8ppm、約0.7ppm、約0.6ppm、約0.5ppm、約0.4ppm、約0.3ppm、約0.2ppm、または約0.1ppm以下の濃度のFkpAを含む、前記組成物。

[実施態様 176]

前記組成物中のFkpAの量が、免疫アッセイによって決定される、実施態様175に記載の組成物。

[実施態様 177]

前記組成物中のFkpAの量が、実施態様106～124のいずれかーに記載の免疫アッセイによって決定される、実施態様175に記載の組成物。

[実施態様 178]

組換えポリペプチドを含む組成物であって、前記組換えポリペプチドが、外因性FkpAを発現するように操作されている宿主細胞内で産生され、前記組成物が、約15ppm、約14ppm、約13ppm、約12ppm、約11ppm、約10ppm、約9ppm、約8ppm、約7ppm、約6ppm、約5ppm、約4ppm、約3ppm、約2ppm、約1ppm、約0.9ppm、約0.8ppm、約0.7ppm、約0.6ppm、約0.5ppm、約0.4ppm、約0.3ppm、約0.2ppm、または約0.

1 p p m以下の濃度の F k p Aを含む、前記組成物。

[実施態様 179]

前記組換えポリペプチドが、抗体である、実施態様 175 ~ 178 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 180]

前記抗体が、二重特異性抗体である、実施態様 179 に記載の抗体。

[実施態様 181]

前記組成物が、少なくとも約 0.2 p p mの F k p Aを含む、実施態様 175 ~ 180 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 182]

前記宿主細胞が、外因性 F k p Aを発現し、前記組成物が、約 13 p p m以下を含む、実施態様 175 ~ 181 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 183]

前記宿主細胞が、外因性 F k p Aを発現し、前記組成物が、約 0.7 p p m以下を含む、実施態様 175 ~ 182 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 184]

前記宿主細胞が、外因性 F k p Aを発現し、前記組成物が、約 6 p p m以下を含む、実施態様 175 ~ 183 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 185]

前記組換えポリペプチドが、二重特異性抗体であり、前記二重特異性抗体が、I L 13 に結合する第 1 の結合ドメイン、及び I L 17 に結合する第 2 の結合ドメインを含む、実施態様 175 ~ 184 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 186]

前記 I L 13 が、配列番号 4 または配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、実施態様 185 に記載の組成物。

[実施態様 187]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 16 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 17 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、実施態様 185 または 186 に記載の組成物。

[実施態様 188]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V H 配列、及び配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 185 ~ 187 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 189]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 18 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 185 ~ 188 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 190]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 185 ~ 189 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 191]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 185 ~ 190 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 192]

前記 I L 17 が、ヒト I L 17 である、実施態様 185 ~ 191 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 193]

前記第 2 の結合ドメインが、ヒト I L 17 A A、I L 17 F F、及び I L 17 A F に結合する、実施態様 185 ~ 192 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 194]

前記 I L 1 7 A が、配列番号 6 または配列番号 7 のアミノ酸配列を含み、前記 I L 1 7 F が、配列番号 8 または配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、実施態様 193 に記載の組成物。

[実施態様 195]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 28 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、実施態様 185 ~ 194 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 196]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む V H 配列、及び配列番号 22 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 185 ~ 195 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 197]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 185 ~ 196 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 198]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 185 ~ 196 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 199]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 185 ~ 198 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 200]

前記組成物が、約 5 p p m、約 4 p p m、約 3 p p m、約 2 p p m、約 1 p p m、約 0 . 9 p p m、約 0 . 8 p p m、約 0 . 7 p p m、約 0 . 6 p p m、約 0 . 5 p p m、約 0 . 4 p p m、約 0 . 3 p p m、約 0 . 2 p p m、または約 0 . 1 p p m 以下の濃度の D s b A を含む、実施態様 185 ~ 199 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 201]

前記組成物中の D s b A の濃度が、免疫アッセイによって決定される、実施態様 200 に記載の組成物。

[実施態様 202]

前記組成物が、約 5 p p m、約 4 p p m、約 3 p p m、約 2 p p m、約 1 p p m、約 0 . 9 p p m、約 0 . 8 p p m、約 0 . 7 p p m、約 0 . 6 p p m、約 0 . 5 p p m、約 0 . 4 p p m、約 0 . 3 p p m、約 0 . 2 p p m、または約 0 . 1 p p m 以下の濃度の D s b C を含む、実施態様 185 ~ 201 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 203]

前記組成物中の D s b C の濃度が、免疫アッセイによって決定される、実施態様 202 に記載の組成物。

[実施態様 204]

二重特異性抗体を含む組成物であって、前記組換えポリペプチドが、

a) 宿主細胞に、

i) 第 1 の重鎖及び第 1 の軽鎖をコードする核酸であって、前記第 1 の重鎖及び前記第 1 の軽鎖が、第 1 の抗原結合ドメインを形成する、核酸と、

i i) 第 2 の重鎖及び第 2 の軽鎖をコードする核酸であって、前記第 2 の重鎖及び前記第 2 の軽鎖が、第 1 の抗原結合ドメインを形成する、核酸と、

i i i) F k p A ポリペプチドをコードする核酸と、を導入することであって、前記第 1 の重鎖及び前記第 2 の重鎖が、F c ドメインを形成する、導入することと、

b) 前記抗体を精製することと、

を含む方法によって産生され、前記組成物が、約 5 p p m 未満の F k p A を含む、前記

組成物。

[実施態様 205]

前記組成物が、約 1 ppm 未満の F k p A を含む、実施態様 204 に記載の組成物。

[実施態様 206]

前記宿主細胞が、原核生物宿主細胞である、実施態様 175 ~ 205 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 207]

前記宿主細胞が、グラム陰性菌である、実施態様 206 に記載の組成物。

[実施態様 208]

前記グラム陰性菌が、E . c o l i である、実施態様 207 に記載の方法。

[実施態様 209]

前記 F k p A が、E . c o l i F k p A である、実施態様 175 ~ 208 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 210]

前記二重特異性抗体が、精製される、実施態様 175 ~ 209 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 211]

前記二重特異性抗体が、I L 1 3 に結合する第 1 の結合ドメインを含む、実施態様 175 ~ 210 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 212]

前記二重特異性抗体が、I L 1 7 に結合する第 2 の結合ドメインを含む、実施態様 175 ~ 211 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 213]

前記 I L 1 3 が、配列番号 4 または配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、実施態様 211 または 212 に記載の組成物。

[実施態様 214]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 16 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 17 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、実施態様 211 ~ 213 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 215]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V H 配列、及び配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 211 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 216]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 18 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 211 ~ 215 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 217]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 211 ~ 215 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 218]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 211 ~ 217 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 219]

前記 I L 1 7 が、ヒト I L 1 7 である、実施態様 211 ~ 218 のいずれかーに記載の組成物。

[実施態様 220]

前記第 2 の結合ドメインが、ヒト I L 1 7 A A、I L 1 7 F F、及び I L 1 7 A F に結合する、実施態様 211 ~ 219 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 2 1]

前記 I L 1 7 A が、配列番号 6 または配列番号 7 のアミノ酸配列を含み、前記 I L 1 7 F が、配列番号 8 または配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、実施態様 2 2 0 に記載の組成物。

[実施態様 2 2 2]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び配列番号 2 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 を含む、実施態様 2 1 9 ~ 2 2 1 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 2 3]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む V H 配列、及び配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 2 1 9 ~ 2 2 2 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 2 4]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 2 1 9 ~ 2 2 3 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 2 5]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 2 1 9 ~ 2 2 3 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 2 6]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 2 1 9 ~ 2 2 5 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 2 7]

前記組成物が、約 1 5 p p m 以下の D s b A を含む、実施態様 1 7 5 ~ 2 2 6 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 2 8]

前記組成物が、約 5 p p m 以下の D s b A を含む、実施態様 1 7 5 ~ 2 2 7 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 2 9]

前記組成物が、約 1 5 p p m 以下の D s b C を含む、実施態様 1 7 5 ~ 2 2 8 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 3 0]

前記組成物が、約 5 p p m 以下の D s b C を含む、実施態様 1 7 5 ~ 2 2 9 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 2 3 1]

ポリペプチド及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記ポリペプチドの精製方法であって、

a) 前記組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を産生することと、

b) 前記親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成することと、

c) 前記混合モード溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集することと、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 2 3 2]

多重特異性抗体及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、V H / V L 単位を含み、前記方法が、逐次的に、

a) 前記組成物をタンパク質 A クロマトグラフィーに供して、タンパク質 A 溶出物を産

生するステップと、

b) 前記タンパク質 A 溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 2 3 3]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様 2 3 1 または 2 3 2 に記載の方法。

[実施態様 2 3 4]

前記親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 2 3 1 に記載の方法。

[実施態様 2 3 5]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 2 3 2 または 2 3 3 に記載の方法。

[実施態様 2 3 6]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 2 3 1 ~ 2 3 5 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 3 7]

前記 H I C が、貫流モードで行われる、実施態様 2 3 1 ~ 2 3 6 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 3 8]

多重特異性抗体及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、V H / V L 単位を含み、前記多重特異性抗体の各アームが、別個に産生され、前記方法が、逐次的に、

a) 前記多重特異性抗体の各アームをタンパク質 A クロマトグラフィーに供して、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質 A 溶出物を産生するステップと、

b) 前記多重特異性抗体を含む組成物を産生するのに十分な条件下で、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質 A 溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c) 前記多重特異性抗体を含む前記組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d) 前記混合モード溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィー (H I C) に供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 2 3 9]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様 2 3 8 に記載の方法。

[実施態様 2 4 0]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 2 3 8 または 2 3 9 に記載の方法。

[実施態様 2 4 1]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 2 3 8 ~ 2 4 0 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 4 2]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、実施態様 2 3 8 ~ 2 4 1 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 4 3]

前記混合モード溶出物が、疎水性相互作用クロマトグラフィー前に陰イオン交換クロマトグラフィーに供される、実施態様 2 3 1 ~ 2 4 2 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 4 4]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 2 4 3 に記載の方法。

[実施態様 2 4 5]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記疎水性相互作用クロマトグラフィー画分を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む画分を収集するステップを更に含む、実施態様 2 3 1 ~ 2 4 4 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 2 4 6]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 2 4 5 に記載の方法。

[実施態様 2 4 7]

ポリペプチド及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記ポリペプチドの精製方法であって、

a) 前記組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を産生することと

、

b) 前記親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成することと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成することと、

d) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集することと、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 2 4 8]

多重特異性抗体及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH / VL 単位を含み、前記方法が、逐次的に、

a) 前記組成物をタンパク質 A クロマトグラフィーに供して、タンパク質 A 溶出物を産生するステップと、

b) 前記タンパク質 A 溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 2 4 9]

多重特異性抗体及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH / VL 単位を含み、前記多重特異性抗体の各アームが、別個に産生され、前記方法が、逐次的に、

a) 前記多重特異性抗体の各アームをタンパク質 A クロマトグラフィーに供して、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質 A 溶出物を産生するステップと、

b) 前記多重特異性抗体を含む組成物を産生するのに十分な条件下で、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質 A 溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c) 前記多重特異性抗体を含む前記組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

e) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 250]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様 247 ~ 249 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 251]

前記親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 247 に記載の方法。

[実施態様 252]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 248 ~ 250 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 253]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 247 ~ 252 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 254]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 247 ~ 253 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 255]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、実施態様 247 ~ 254 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 256]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記疎水性相互作用クロマトグラフィー画分を陽イオン交換クロマトグラフィーに供するステップを更に含む、実施態様 247 ~ 255 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 257]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 247 ~ 256 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 258]

ポリペプチド及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記ポリペプチドの精製方法であって、

a) 前記組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を産生することと

と、
b) 前記親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成することと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成することと、

d) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集することと、

e) 前記疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集することと、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 259]

多重特異性抗体及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL 単位を含み、前記方法が、逐次的に、

a) 前記組成物をタンパク質 A クロマトグラフィーに供して、タンパク質 A 溶出物を産生するステップと、

b) 前記タンパク質 A 溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、

e) 前記疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 260]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記多重特異性抗体の各アームが、別個に産生され、前記方法が、逐次的に、

a) 前記多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を産生するステップと、

b) 前記多重特異性抗体を含む組成物を産生するのに十分な条件下で、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c) 前記多重特異性抗体を含む前記組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

e) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、

f) 前記疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 261]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様 258 ~ 260 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 262]

前記親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 258 に記載の方法。

[実施態様 263]

前記タンパク質Aクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 259 ~ 261 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 264]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 258 ~ 263 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 265]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 258 ~ 264 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 266]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、実施態様 258 ~ 265 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 267]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 258 ~ 266 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 268]

ポリペプチド及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記ポリペプチドの精製方法であって、逐次的に、

a) 前記組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を産生するステップと、

b) 前記親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d) 前記陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイト (hydroxyapatite) クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 269]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記方法が、逐次的に、

a) 前記組成物をタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、タンパク質A溶出物を産生するステップと、

b) 前記タンパク質A溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d) 前記陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 270]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記多重特異性抗体の各アームが、別個に産生され、前記方法が、逐次的に、

a) 前記多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を産生するステップと、

b) 前記多重特異性抗体を含む組成物を産生するのに十分な条件下で、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c) 前記多重特異性抗体を含む前記組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

e) 前記陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 271]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様 268 ~ 270 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 272]

前記親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 271 に記載の方法。

[実施態様 273]

前記タンパク質Aクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 269 ~ 272 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 274]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 268 ~ 273 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 275]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 268 ~ 274 のいずれかに記載の方法。

[実施態様 276]

前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、実施態様 268 ~ 275 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 277]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記ヒドロキシアパタイト相互作用クロマトグラフィー画分を限外濾過に供するステップを更に含む、実施態様 231 ~ 245 または 256 ~ 267 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 278]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記陽イオン交換画分を限外濾過に供するステップを更に含む、実施態様 245 ~ 246 または 256 ~ 267 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 279]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー画分を限外濾過に供するステップを更に含む、実施態様 267 ~ 276 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 280]

前記限外濾過が、第 1 の限外濾過、透析濾過、及び第 2 の限外濾過を逐次的に含む、実施態様 277 ~ 279 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 281]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、アガロースに結合しているタンパク質 A を含む、実施態様 232 ~ 233、235 ~ 246、248 ~ 250、252 ~ 257、259 ~ 261、263 ~ 270、または 269 ~ 276 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 282]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、M A b S e l e c t (商 標)、M A b S e l e c t (商 標) S u R e、及び M A b S e l e c t (商 標) S u R e L X、P r o s e p - V A、P r o s e p - V A U l t r a P l u s、P r o t e i n A S e p h a r o s e (登 録 商 標) f a s t f l o w、または T y o p e a r l P r o t e i n A クロマトグラフィーである、実施態様 281 に記載の方法。

[実施態様 283]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、タンパク質 A 平衡化緩衝液、タンパク質 A 装填緩衝液、またはタンパク質 A 洗浄緩衝液のうちの一つ以上を使用し、前記平衡化緩衝液、装填緩衝液、及び / または洗浄緩衝液が、約 pH 7 ~ 約 pH 8 である、実施態様 281 または 282 に記載の方法。

[実施態様 284]

前記タンパク質 A 平衡化緩衝液が、約 pH 7.7 である、実施態様 283 に記載の方法。

[実施態様 285]

前記タンパク質 A 平衡化緩衝液が、約 25 mM の T r i s 及び約 25 mM の N a C l を含む、実施態様 283 または 284 に記載の方法。

[実施態様 286]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、装填後に平衡化緩衝液で洗浄される、実施態様 283 ~ 285 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 287]

第 2 の洗浄及び第 3 の洗浄を更に含み、前記第 2 の洗浄が、1 M のアルギニンであり、前記第 3 の洗浄が、平衡化緩衝液である、実施態様 286 に記載の方法。

[実施態様 288]

前記多重特異性抗体が、pH 勾配によって前記タンパク質 A クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 283 ~ 287 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 289]

前記多重特異性抗体が、低 pH を有するタンパク質 A 溶出緩衝液を前記タンパク質 A ク

ロマトグラフィーに適用することによって、タンパク質 A から溶出される、実施態様 2 8 3 ~ 2 8 8 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 9 0]

前記タンパク質 A 溶出緩衝液が、約 1 5 0 m M の酢酸 (約 p H 2 . 8 または約 p H 2 . 9) を含む、実施態様 2 8 9 に記載の方法。

[実施態様 2 9 1]

前記タンパク質 A 溶出物が、プールされ、前記溶出物の O D _{2 8 0} が、約 0 . 5 を超える、実施態様 2 8 3 ~ 2 9 0 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 9 2]

前記混合モードクロマトグラフィーが、四級アミン及び疎水性部分を含む、実施態様 2 3 1 ~ 2 9 1 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 9 3]

前記混合モードクロマトグラフィーが、四級アミン及び高架橋アガロースに結合している疎水性部分を含む、実施態様 2 3 1 ~ 2 9 2 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 9 4]

前記混合モードクロマトグラフィーが、N - ベンジル - n - メチルエタノールアミンを含む、実施態様 2 3 1 ~ 2 9 3 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 9 5]

前記混合モードクロマトグラフィーが、C a p t o (商標) a d h e r e クロマトグラフィーである、実施態様 2 9 4 に記載の方法。

[実施態様 2 9 6]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード事前平衡化緩衝液、混合モード平衡化緩衝液、混合モード装填緩衝液、または混合モード洗浄緩衝液のうちの 1 つ以上を使用し、前記混合モード事前平衡化緩衝液、前記混合モード平衡化緩衝液、及び / または混合モード洗浄緩衝液が、約 p H 6 ~ 約 p H 7 である、実施態様 2 3 1 ~ 2 9 5 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 2 9 7]

前記混合モード事前平衡化緩衝液、前記混合モード平衡化緩衝液、及び / または混合モード洗浄緩衝液が、約 p H 6 . 5 である、実施態様 2 9 6 に記載の方法。

[実施態様 2 9 8]

前記混合モード事前平衡化緩衝液が、約 2 0 0 m M の酢酸塩または約 5 0 0 m M の酢酸塩を含む、実施態様 2 9 6 または 2 9 7 に記載の方法。

[実施態様 2 9 9]

前記混合モード平衡化緩衝液が、約 5 0 m M の酢酸塩を含む、実施態様 2 9 6 ~ 2 9 8 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 0 0]

前記混合モードクロマトグラフィーが、装填後に洗浄緩衝液で洗浄される、実施態様 2 9 6 ~ 2 9 9 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 0 1]

前記洗浄緩衝液が、約 5 0 m M の酢酸塩 (約 p H 6 . 5) または約 2 0 0 m M の酢酸塩 (約 p H 6 . 5) である、実施態様 3 0 0 に記載の方法。

[実施態様 3 0 2]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、p H 勾配によって前記混合モードクロマトグラフィーから溶出される、実施態様 2 3 1 ~ 3 0 1 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 0 3]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、低 p H を有する混合モード溶出緩衝液を前記混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーに適用することによって、前記混合モードクロマトグラフィーから溶出される、実施態様 2 3 1 ~ 3 0 2 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 0 4]

前記混合モード溶出緩衝液が、約 25 mM の酢酸塩（約 pH 5.2 または約 pH 5.0）を含む、実施態様 303 に記載の方法。

[実施態様 305]

前記混合モード溶出物が、プールされ、前記溶出物の OD₂₈₀ が、約 0.5 超 ~ 約 1.0 である、実施態様 231 ~ 304 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 306]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）が、疎水性部分を含む、実施態様 231 ~ 267 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 307]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、フェニル部分を含む、実施態様 306 に記載の方法。

[実施態様 308]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、架橋アガロースに結合している疎水性部分を含む、実施態様 306 または 307 に記載の方法。

[実施態様 309]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、架橋アガロースに結合しているフェニル部分またはブチル部分を含む、実施態様 306 ~ 308 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 310]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、phenyl Sepharose（登録商標）クロマトグラフィーまたは Butyl Sepharose（登録商標）クロマトグラフィーである、実施態様 309 に記載の方法。

[実施態様 311]

前記疎水性相互作用交換クロマトグラフィーが、HIC 平衡化緩衝液、HIC 装填緩衝液、または HIC 洗浄緩衝液のうちの一つ以上を使用し、前記 HIC 平衡化緩衝液、前記装填緩衝液、及び / または前記 HIC 洗浄緩衝液が、約 pH 5 ~ 約 pH 6 である、実施態様 306 ~ 310 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 312]

前記 HIC 平衡化緩衝液、前記装填緩衝液、及び / または前記洗浄緩衝液が、約 pH 5.5 である、実施態様 311 に記載の方法。

[実施態様 313]

前記 HIC 平衡化緩衝液及び前記洗浄緩衝液が、約 170 mM の酢酸塩を含む、実施態様 311 または 312 に記載の方法。

[実施態様 314]

前記 HIC 装填緩衝液が、50 mM の Tris、100 mM の酢酸ナトリウム（pH 約 5.5）である、実施態様 311 ~ 313 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 315]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、装填後に HIC 洗浄緩衝液で洗浄される、実施態様 311 ~ 314 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 316]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、ヘキシル部分を含む、実施態様 306 ~ 315 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 317]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、ヒドロキシル化メタクリルポリマーに結合している疎水性部分を含む、実施態様 306 に記載の方法。

[実施態様 318]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、ヒドロキシル化メタクリルポリマーに結合しているヘキシル部分を含む、実施態様 316 または 317 に記載の方法。

[実施態様 319]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、TOYOPEARL（登録商標）Hexyl 650C である、実施態様 318 に記載の方法。

[実施態様 3 2 0]

前記疎水性相互作用交換クロマトグラフィーが、H I C 平衡化緩衝液、H I C 装填緩衝液、またはH I C 洗浄緩衝液のうちの一つ以上を使用し、前記H I C 平衡化緩衝液、前記H I C 装填緩衝液、及び/または前記H I C 洗浄緩衝液が、約p H 6 ~ 約p H 8 である、実施態様 3 1 6 ~ 3 1 9 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 2 1]

前記H I C 平衡化緩衝液、前記装填緩衝液、及び/または前記洗浄緩衝液が、約p H 7 . 0 である、実施態様 3 2 0 に記載の方法。

[実施態様 3 2 2]

前記H I C 平衡化緩衝液及び前記洗浄緩衝液が、約5 0 m M の3 - (N - モルホリノ) プロパンスルホン酸 (M O P S) 及び1 2 5 m M の酢酸塩を含む、実施態様 3 2 0 または 3 2 1 に記載の方法。

[実施態様 3 2 3]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、装填後にH I C 洗浄緩衝液で洗浄される、実施態様 3 1 6 ~ 3 2 2 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 2 4]

前記疎水性相互作用溶出物が、プールされ、前記溶出物のO D _{2 8 0} が、約0 . 5 超 ~ 約1 . 0 である、実施態様 3 0 6 ~ 3 2 3 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 2 5]

陰イオン交換クロマトグラフィーが、四級アミンを含む、実施態様 2 4 3、2 4 4、または2 4 7 ~ 3 2 4 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 2 6]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、架橋アガロースに結合している四級アミンを含む、実施態様 3 2 5 に記載の方法。

[実施態様 3 2 7]

前記混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーが、Q S F F クロマトグラフィーである、実施態様 3 2 6 に記載の方法。

[実施態様 3 2 8]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、陰イオン交換事前平衡化緩衝液、陰イオン交換平衡化緩衝液、または陰イオン交換装填緩衝液のうちの一つ以上を使用し、前記陰イオン交換事前平衡化緩衝液、前記陰イオン交換平衡化緩衝液、及び/または陰イオン交換前記装填緩衝液が、約p H 8 ~ 約p H 9 である、実施態様 3 2 5 ~ 3 2 7 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 2 9]

前記陰イオン交換事前平衡化緩衝液、前記陰イオン交換平衡化緩衝液、及び/または前記陰イオン交換装填緩衝液が、約p H 8 . 5 である、実施態様 3 2 8 に記載の方法。

[実施態様 3 3 0]

前記陰イオン交換事前平衡化緩衝液が、約5 0 m M のT r i s 及び約5 0 0 m M の酢酸ナトリウムまたは約1 0 0 m M の酢酸ナトリウムを含む、実施態様 3 2 8 または 3 2 9 に記載の方法。

[実施態様 3 3 1]

前記陰イオン交換平衡化緩衝液が、約5 0 m M のT r i s を含む、実施態様 3 2 8 ~ 3 3 0 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 3 2]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、装填後に陰イオン交換平衡化緩衝液で洗浄される、実施態様 3 2 8 ~ 3 3 1 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 3 3]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、塩勾配によって前記陰イオン交換クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 3 2 8 ~ 3 3 2 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 3 4]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、増加した塩濃度を有する陰イオン交換溶出緩衝液を前記陰イオン交換クロマトグラフィーに適用することによって、前記陰イオン交換クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 328 ~ 333 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 335]

前記陰イオン交換溶出緩衝液が、約 50 mM の *Tris* 及び約 100 mM の酢酸ナトリウム (約 pH 8.5) を含む、実施態様 334 に記載の方法。

[実施態様 336]

前記陰イオン交換溶出物が、プールされ、前記溶出物の OD_{280} が、約 0.5 超 ~ 約 1.0 である、実施態様 328 ~ 335 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 337]

前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーである、実施態様 267 ~ 280 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 338]

前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、CHT I 型セラミックヒドロキシアパタイト (*hydroxyapatite*) クロマトグラフィーである、実施態様 337 に記載の方法。

[実施態様 339]

前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、ヒドロキシアパタイト緩衝液 A またはヒドロキシアパタイト緩衝液 B のうちの 1 つ以上を使用し、前記ヒドロキシアパタイト緩衝液 B が、ヒドロキシアパタイト緩衝液 A と比較してより高い伝導度を有する、実施態様 337 または 338 に記載の方法。

[実施態様 340]

前記ヒドロキシアパタイト緩衝液 A が、約 10 mM のリン酸ナトリウム (約 pH 6.8) を含む平衡化緩衝液である、実施態様 339 に記載の方法。

[実施態様 341]

前記ヒドロキシアパタイト緩衝液 B が、約 10 mM のリン酸ナトリウム及び約 1 M 塩化ナトリウム (約 pH 6.8) を含む、実施態様 339 または 340 に記載の方法。

[実施態様 342]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、ヒドロキシアパタイト緩衝液 A 中のヒドロキシアパタイト緩衝液 B の勾配を使用して、ヒドロキシアパタイト (*hydroxyapatite*) クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 339 ~ 341 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 343]

前記勾配が、線形勾配である、実施態様 342 に記載の方法。

[実施態様 344]

前記勾配が、0% のヒドロキシアパタイト緩衝液 B から 100% のヒドロキシアパタイト緩衝液 B へと増加する、実施態様 342 または 343 に記載の方法。

[実施態様 345]

前記勾配が、約 20 カラム体積中、0% のヒドロキシアパタイト緩衝液 B から 100% のヒドロキシアパタイト緩衝液 B へと増加する、実施態様 342 ~ 344 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 346]

前記ヒドロキシアパタイト溶出物が、プールされ、前記溶出物の OD_{280} が、約 0.5 超 ~ 約 1.0 である、実施態様 337 ~ 345 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 347]

陽イオン交換クロマトグラフィーが、カルボン酸部分またはスルホン酸部分を含む、実施態様 245 ~ 246 または 256 ~ 326 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 348]

前記カルボン酸部分または前記スルホン酸部分が、スルホプロピル、スルホエチル、ス

ルホイソブチル、またはカルボキシル部分である、実施態様 3 4 7 に記載の方法。

[実施態様 3 4 9]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、架橋アガロースに結合しているカルボン酸部分またはスルホン酸部分を含む、実施態様 3 4 7 または 3 4 8 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 5 0]

前記陽イオン交換材料が、POROS (登録商標) HS 5 0、POROS (登録商標) HS 2 0、SO3 Monolith、S Ceramic Hyper D、スルホプロピル - Sepharose (登録商標) Fast Flow (SPSFF)、SP - Sepharose (登録商標) XL (SPXL)、CM Sepharose (登録商標) Fast Flow、Capto (商標) S、Fractogel Se Hi Cap、Fractogel SO3、または Fractogel COO である、実施態様 3 4 8 または 3 4 9 に記載の方法。

[実施態様 3 5 1]

前記陽イオン交換装填密度が、約 2 0 g / L 未満である、実施態様 3 4 7 ~ 3 5 0 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 5 2]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、陽イオン交換事前平衡化緩衝液、陽イオン交換平衡化緩衝液、陽イオン交換装填緩衝液、または陽イオン交換洗浄緩衝液のうちの 1 つ以上を使用し、前記陽イオン交換事前平衡化緩衝液、前記陽イオン交換平衡化緩衝液、前記陽イオン交換装填緩衝液、及び / または陽イオン交換洗浄緩衝液が、約 pH 5 . 0 ~ 約 pH 6 . 0 である、実施態様 3 4 7 ~ 3 5 1 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 5 3]

前記陽イオン交換陽イオン交換、前記平衡化緩衝液、前記陽イオン交換装填緩衝液、及び / または陽イオン交換洗浄緩衝液が、約 pH 5 . 5 または約 pH 5 . 8 である、実施態様 3 5 2 に記載の方法。

[実施態様 3 5 4]

前記陽イオン交換平衡化緩衝液が、5 0 m M の酢酸ナトリウムを含む、実施態様 3 5 2 または 3 5 3 に記載の方法。

[実施態様 3 5 5]

前記陽イオン交換洗浄緩衝液が、5 0 m M の酢酸ナトリウムを含む、実施態様 3 5 2 ~ 3 5 4 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 5 6]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、装填後に平衡化緩衝液で洗浄される、実施態様 3 5 2 ~ 3 5 5 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 5 7]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、塩勾配によって前記陽イオン交換クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 3 5 2 ~ 3 5 6 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 5 8]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、増加した塩濃度を有する陽イオン交換溶出緩衝液を前記陽イオン交換クロマトグラフィーに適用することによって、前記陽イオン交換クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 3 5 2 ~ 3 5 7 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 3 5 9]

前記陽イオン交換溶出緩衝液が、5 0 0 m M の酢酸ナトリウム (約 pH 5 . 8) を含む、実施態様 3 5 8 に記載の方法。

[実施態様 3 6 0]

前記溶出が、1 0 % ~ 1 0 0 % の陽イオン交換溶出緩衝液の勾配溶出である、実施態様 3 5 9 に記載の方法。

[実施態様 3 6 1]

前記陽イオン交換溶出物が、プールされ、前記溶出物のOD₂₈₀が、約0.5超～約1.0である、実施態様352～360のいずれかに記載の方法。

[実施態様362]

前記ポリペプチドまたは前記多重特異性抗体が、細胞内で産生される、実施態様251～361のいずれかに記載の方法。

[実施態様363]

前記多重特異性抗体の前記アームが、細胞内で産生される、実施態様361に記載の方法。

[実施態様364]

前記細胞が、原核生物細胞である、実施態様362または363に記載の方法。

[実施態様365]

前記原核生物細胞が、E. coli細胞である、実施態様364に記載の方法。

[実施態様366]

前記細胞が、1つ以上のシャペロンを発現するように操作される、実施態様364または365に記載の方法。

[実施態様367]

前記シャペロンが、FkpA、DsbA、またはDsbCのうちの一つ以上である、実施態様366に記載の方法。

[実施態様368]

前記シャペロンが、E. coliシャペロンである、実施態様366または367に記載の方法。

[実施態様369]

前記細胞が溶解されて、前記ポリペプチドまたは前記多重特異性抗体を含む細胞溶解物を生成する、実施態様362～368のいずれかに記載の方法。

[実施態様370]

前記細胞が溶解されて、タンパク質Aクロマトグラフィー前に前記多重特異性抗体または前記多重特異性抗体のアームを含む細胞溶解物を生成する、実施態様369に記載の方法。

[実施態様371]

前記細胞が、微小流動化剤を使用して溶解される、実施態様369または370に記載の方法。

[実施態様372]

ポリエスリエンイミン(polyethyleneimine)(PEI)が、クロマトグラフィー前に前記細胞溶解物に添加される、実施態様369～371のいずれかに記載の方法。

[実施態様373]

前記PEIが、約0.4%の最終濃度になるまで前記溶解物に添加される、実施態様372に記載の方法。

[実施態様374]

前記細胞溶解物が、遠心分離によって浄化される、実施態様369～373のいずれかに記載の方法。

[実施態様375]

前記産物特異的不純物が、非対合抗体アーム、抗体ホモ二量体、凝集体、高分子量種(HMW)、低分子量種(LMW)、酸性変異形、または塩基性変異形のうちの一つ以上である、実施態様251～373のいずれかに記載の方法。

[実施態様376]

前記方法が、前記組成物中のE. coliタンパク質(ECP)、FkpA、DsbA、DsbC、浸出タンパク質A、核酸、細胞培養培地成分、またはウイルス不純物のうちのいずれか1つの量を低減する、実施態様251～375のいずれかに記載の方法。

[実施態様377]

前記多重特異性抗体が、二重特異性抗体である、実施態様 232 ~ 245、247 ~ 257、259 ~ 267、または 269 ~ 376 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 378]

前記多重特異性抗体の第 1 のアームが、IL13 に結合する、実施態様 377 に記載の方法。

[実施態様 379]

前記 IL13 が、ヒト IL13 である、実施態様 378 に記載の方法。

[実施態様 380]

前記 IL13 が、配列番号 1 または配列番号 2 のアミノ酸配列を含む、実施態様 378 または 379 に記載の方法。

[実施態様 381]

前記多重特異性抗体の前記第 1 のアームが、配列番号 7 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 12 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む、実施態様 378 ~ 380 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 382]

前記多重特異性抗体の前記第 1 のアームが、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む VH 配列、及び配列番号 14 のアミノ酸配列を含む VL 配列を含む、実施態様 378 ~ 381 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 383]

前記多重特異性抗体の前記第 1 のアームが、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 378 ~ 382 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 384]

前記多重特異性抗体の前記第 1 のアームが、配列番号 16 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 378 ~ 383 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 385]

前記多重特異性抗体の前記第 1 のアームが、配列番号 17 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 378 ~ 384 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 386]

前記抗体の第 2 のアームが、IL17 に結合する、実施態様 378 ~ 385 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 387]

前記 IL17 が、ヒト IL17 である、実施態様 386 に記載の方法。

[実施態様 388]

前記 IL17 が、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、または配列番号 6 のアミノ酸配列を含む、実施態様 386 または 387 に記載の方法。

[実施態様 389]

前記多重特異性抗体の第 2 のアームが、配列番号 18 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 22 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 23 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む、実施態様 386 ~ 388 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 390]

前記多重特異性抗体の前記第 2 のアームが、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む VH 配列、及び配列番号 26 のアミノ酸配列を含む VL 配列を含む、実施態様 386 ~ 389 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 391]

前記多重特異性抗体の前記第 2 のアームが、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 386 ~ 390 のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 392]

前記多重特異性抗体の前記第2のアームが、配列番号28のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様386～391のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 393]

前記多重特異性抗体の前記第2のアームが、配列番号29のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様386～393のいずれかーに記載の方法。

[実施態様 394]

実施態様231～393のいずれかーに記載の方法によって精製されたポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む、組成物であって、約5%、4%、3%、2%、または1%以下の産物特異的不純物を含む、前記組成物。

[実施態様 395]

前記産物特異的不純物が、非対合抗体アーム、抗体ホモ二量体、凝集体、高分子量種（HMW）、低分子量種（LMW）、酸性変異形、または塩基性変異形のうちの1つ以上である、実施態様394に記載の組成物。

[実施態様 396]

前記組成物が、約未満を含み、組成物が、前記組成物中、約5%、4%、3%、2%、または1%以下のE.coliタンパク質（ECP）、FkpA、DsbA、DsbC、浸出タンパク質A、核酸、細胞培養培地成分、またはウイルス不純物のうちのいずれか1つを含む、実施態様394または395に記載の組成物。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2018533355A5	公开(公告)日	2019-09-26
申请号	JP2018509536	申请日	2016-08-19
[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	フォンクリスピー ラディワラアシフ		
发明人	フォン, クリスピー. ラディワラ, アシフ マッケイ, パトリック エー.		
IPC分类号	C12N9/90 C07K16/12 C07K16/46 C07K16/24 A61K47/68 A61P43/00 A61K39/395 G01N33/53 C12N1/21 C12N15/13 C12N15/61 C12N15/62 C12P21/08		
CPC分类号	C07K11/165 C07K11/18 C07K11/22 C07K14/245 C07K16/065 C07K16/1232 C12N9/90 C12Y502/01008 G01N33/563		
FI分类号	C12N9/90.ZNA C07K16/12 C07K16/46 C07K16/24 A61K47/68 A61P43/00.105 A61P43/00.111 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K39/395.C A61K39/395.L G01N33/53.D G01N33/53.N C12N1/21 C12N15/13 C12N15/61 C12N15/62.Z C12P21/08		
F-TERM分类号	4B050/DD02 4B050/EE02 4B050/EE03 4B050/FF01C 4B050/FF03C 4B050/FF05E 4B050/FF11C 4B050/HH03 4B050/LL01 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA26Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/BB37 4B065/BC03 4B065/BD01 4B065/BD09 4B065/BD15 4B065/BD16 4B065/BD18 4B065/CA27 4B065/CA44 4C076/AA95 4C076/CC26 4C076/CC29 4C076/CC41 4C076/EE59 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA25 4C085/BB36 4C085/CC01 4C085/CC07 4C085/CC23 4C085/CC31 4C085/DD32 4C085/DD34 4C085/DD62 4C085/DD88 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA41 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA06 4H045/GA10 4H045/GA15 4H045/GA21 4H045/GA26		
优先权	62/207910 2015-08-20 US 62/207908 2015-08-20 US 62/210378 2015-08-26 US		
其他公开文献	JP2018533355A		

摘要(译)

本发明提供了以非常高的纯度生产FKBP型肽基-脯氨酰顺反异构酶 (FkpA) 多肽的方法。 还提供了超纯的FkpA及其使用方法, 例如用于免疫测定以证明从细菌产生的生物制品中去除了FkpA。 另外, 本发明提供了纯化在过表达一种或多种分子伴侣的细菌中产生的多肽 (例如, 多特异性抗体) 的方法。 该方法包括亲和色谱, 混合模式色谱和疏水相互作用色谱。 在一些方面, 本发明提供了基本上不含产物特异性杂质的多肽 (例如, 多特异性抗体) 的组合物。 [选择图]无

ステップ	α A MSS	α B MSS	組み立 て	C a p t o (商標) A d h e r e	Q S F	P h e n y l S e p h a r o s e (登録商 標)	U F D F
収率 (%)	77	75	85	77	85	84	80
E C P (p p m)	118 17	109 96	344 7	94	44	26	16
F k p A (p p m)	333 1	275 1	184 1	1265	216	8	8
D s b A (p p m)	59	29	28	5	1	1	0.3
D s b C (p p m)	94	144	122	4	9	2	0.1
S E C - 合計 H M W S (%)	4.2	12. 0	14. 4	7.4	1.4	0.2	0.7
S E C - 主要 (%)	18. 1	29. 4	85. 1	92.6	98. 5	99.8	99. 3
S E C - L M W S (%)	77. 3	58. 5	0.5	0	0.0 9	0	0
純度、 N R - C E - S D S (%)	83. 5	71. 1	86. 9	92.6	96. 4	97	97