

【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30年1月25日(2018.1.25)

【公表番号】特表2017-501148(P2017-501148A)

【公表日】平成29年1月12日(2017.1.12)

【年通号数】公開・登録公報2017-002

【出願番号】特願2016-538783(P2016-538783)

【国際特許分類】

C 0 7 K 1/02 (2006.01)

C 0 7 K 2/00 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 1/02

C 0 7 K 2/00 Z N A

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月5日(2017.12.5)

【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】

タンパク質(P)がチオエーテルを介して化学的部分(Z)に共有結合されるタンパク質コンジュゲートを調製する方法であって、

- a) 該タンパク質を含む混合ジスルフィドの組成物を得る工程と、
- b) 前記タンパク質組成物に還元剤を添加し還元混合物を得る工程と、
- c) 還元反応を生じさせる工程と、
- d) 還元タンパク質(P-SH)を含む溶液を得る工程と、
- e) 分子量が10kDa未満の溶液の分子を場合により除去する工程と、
- f) 溶液(還元タンパク質を含む)に、活性化された化学的部分(Z*)を添加し、1から4当量の化学的部分(Z*)を含むコンジュゲーション混合物を得る工程と、
- g) コンジュゲーション反応を生じさせる工程と、
- h) 前記コンジュゲートタンパク質(P-S-Z)の調製物を得る工程とを含む方法。

【請求項2】

少なくとも1つの工程がクロスフロー濾過/タンジェンシャルフロー濾過システムで行われる、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

混合ジスルフィドが、キャップ化遊離システイン(P-S-S-Cap)を有するタンパク質である、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

Capがシステイン、システアミン又はグルタチオンに由来する、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

工程b)の還元混合物が、少なくとも C_{min} の混合ジスルフィドの濃度を有し、ここで C_{min} が

$$C_{min} = a \cdot I^{-a_1} \exp(-b \cdot T)$$

により定義され、Tは摂氏温度での温度であり、Iは還元混合物のイオン強度(M)であり、 $a = 0.137 \cdot 10^{-3} M^{1.425}$ 、 $a_1 = 0.425$ 及び $b = 0.070 \cdot 10^{-1}$ である、請求項1から4のいずれか一項に記

載の方法。

【請求項 6】

f)のコンジュゲーション混合物が、少なくとも C_{min} の還元タンパク質の濃度を有し、ここで C_{min} が

$$C_{min}=a*\exp(-b_1*T-b_2*I)+d*\exp(-d_1*T)$$

により定義され、Tは摂氏温度での温度であり、Iはコンジュゲーション混合物のイオン強度(M)であり、 $a=6.96*10^{-4}M$ 、 $b_1=0.0396\text{ }^{-1}$ 、 $b_2=10.9M^{-1}$ 、 $d=6.12*10^{-5}M$ 及び $d_1=0.0289\text{ }^{-1}$ である、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

還元剤がホスフィンである、請求項1から6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

ホスフィンがトリアリールホスフィンである、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

トリアリールホスフィンがトリフェニルホスフィン-3,3'-ジスルホン酸二ナトリウム(TPPDS)である、請求項8に記載の方法。

【請求項 10】

工程b)の還元混合物に含まれる還元剤の量が、最大で10当量のタンパク質(P-S-S-Cap)である、請求項1から9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

活性化された化学的部分(Z^*)が、Br、I又はClを含むハロゲン化アルブミン結合体である、請求項1から10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

工程f)のコンジュゲーション混合物が、混合ジスルフィドと比べて、最大で3当量の活性化された化学的部分(Z^*)を含む、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

工程e)が、セルロース膜を用いて行われる透析濾過である、請求項1から12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

透析濾過緩衝液が還元剤を含まない、請求項12に記載の方法。

【請求項 15】

工程a)の組成物、工程b)の還元混合物、工程d)の溶液、工程f)のコンジュゲーション混合物、及び/又は工程h)の調製物がトリエタノールアミンを含む、請求項1から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

工程a)の組成物、工程b)の還元混合物、工程d)の溶液、工程f)のコンジュゲーション混合物、及び/又は工程h)の調製物がpH7.0から8.0を有する、請求項1から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

タンパク質がL101C点変異を含む成長ホルモンポリペプチドである、請求項1から16のいずれか一項に記載の方法。