

【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30年7月12日 (2018.7.12)

【公表番号】特表2017-521057(P2017-521057A)

【公表日】平成29年8月3日 (2017.8.3)

【年通号数】公開・登録公報2017-029

【出願番号】特願2016-572251(P2016-572251)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/00 (2006.01)

C 1 2 M 3/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/00 C

C 1 2 M 3/00 Z

【手続補正書】

【提出日】平成30年6月4日 (2018.6.4)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 2 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 2 6】

例示的な組換えタンパク質単離システム

本明細書に記載されている方法を行うのに有用で、M C C S または M C C S 1 および M C C S 2 を含む生物学的製造システムの例は、米国仮特許出願第 6 1 / 7 7 5 , 0 6 0 号、米国仮特許出願第 6 1 / 8 5 6 , 3 9 0 号、米国特許出願第 1 4 / 1 9 5 , 4 8 1 号、国際特許出願番号 P C T / U S 2 0 1 4 / 0 1 9 9 0 9 および米国仮特許出願第 6 1 / 9 2 8 , 9 0 6 号に記載されている（参照により組み入れられている）。全体のシステムは、例えば、合計 4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、9 つ、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9 または 2 0 のクロマトグラフィーカラムを含むことができる。例えば、M C C S、M C C S 1 および / または M C C S 2 は、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、9 つまたは 1 0 のクロマトグラフィーカラムを含むことができる（または、それぞれが、含むことができる）。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 3 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 3 2】

M C C S または M C C S 1 に存在しているクロマトグラフィーカラムおよび / またはクロマトグラフィー膜は接続されるか、または切り替え機構（例えば、カラムの切り替え機構）により、互いに移動される。M C C S または M C C S 1 はまた、1 つまたはそれ以上（例えば、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つ）のポンプ（例えば、自動ポンプ、例えば自動ペリスタポンプ）も含むことができる。カラムの切り替え行為（event）は、M C C S または M C C S 1 を通過する流体（例えば、M C C S または M C C S 1 におけるクロマトグラフィーカラムおよび / またはクロマトグラフィー膜の 1 つまたはそれ以上への流入物および / または溶離液）における組換えタンパク質のある種のレベルに対応する UV 吸光

度によって検出される組換えタンパク質のレベルの検出、液体（例えば、緩衝液）の比体積、または特定の経過時間を契機とすることができる。カラムの切り替えは、一般に、MCCSまたはMCCS1における、少なくとも2つの異なるクロマトグラフィーカラムおよび/またはクロマトグラフィー膜（例えば、MCCS1またはMCCSに存在している、2つもしくはそれ以上の異なるクロマトグラフィーカラムおよび/またはクロマトグラフィー膜）が、この工程の少なくとも一部の間の実質的に同じ時間に、様々な工程（例えば、平衡、搭載、溶出または洗浄）を通過することが可能となる機構を意味する。

【手続補正3】

【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】

シードトレイン法であって、

（a）槽内に含まれている第1の培養培地に複数の組換え哺乳動物細胞を加えて第1の細胞培養物を得る工程；

（b）第1の細胞培養物を約 1.0×10^6 細胞/mL～約 5.0×10^6 細胞/mLの細胞密度範囲まで回分培養する工程；

（c）灌流バイオリアクター内に含まれている第2の培養培地に、ある体積の工程（b）の第1の細胞培養物を加えて、約 0.25×10^6 細胞/mL～約 0.5×10^6 細胞/mLの範囲の初期細胞密度を有する第2の細胞培養物を得る工程；

（d）第2の細胞培養物を約 5×10^6 細胞/mL～約 120×10^6 細胞/mLの間の細胞密度範囲まで灌流培養する工程；および

（e）生産用バイオリアクター内に含まれている第3の培養培地に、ある体積の工程（d）の第2の細胞培養物を加えて、約 0.25×10^6 細胞/mL～約 8×10^6 細胞/mLの範囲の初期細胞密度を有する生産細胞培養物を得る工程を含む前記シードトレイン法。

【請求項2】

（a）における複数の組換え哺乳動物細胞を加える工程は：

凍結細胞バンクを解凍する工程；および

第1の培養培地に、ある体積の解凍細胞バンクを加える工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

（a）における複数の組換え哺乳動物細胞を加える工程は、第1の培養培地に複数の組換え哺乳動物細胞を含むある体積の第3の細胞培養物を加える工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

（1）槽内に含まれている第4の培養培地に複数の組換え哺乳動物細胞を加えて、第3の細胞培養物を得る工程；

（2）（1）の第3の細胞培養物を約 1.0×10^6 細胞/mL～約 5.0×10^6 細胞/mLの細胞密度範囲まで回分培養する工程をさらに含み、

ある体積の（2）における第3の細胞培養物が（a）において第1の培養培地に加えられる、

請求項3に記載の方法。

【請求項5】

（1）における複数の組換え哺乳動物細胞を加える工程は：

凍結細胞バンクを解凍する工程；および

第4の培養培地に、ある体積の解凍細胞バンクを加える工程

を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

(a) における第 1 の細胞培養物は、約 1 . 0 L ~ 約 5 0 L の体積範囲を有し；

(c) における第 2 の細胞培養物は、約 5 L ~ 約 6 0 0 L の体積範囲を有し；および / または

(e) における生産細胞培養物は、約 5 0 L ~ 約 2 0 , 0 0 0 L の体積範囲を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

(a) における槽は、約 1 . 5 L ~ 約 1 0 0 L の内部容積範囲を有し；

(c) における灌流バイオリアクターは、約 7 . 5 L ~ 約 1 , 0 0 0 L の内部容積範囲を有し；および / または

(e) における生産用バイオリアクターは、約 1 5 0 L ~ 約 2 5 , 0 0 0 L の内部容積範囲を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

(e) における初期細胞密度は、約 $2 . 0 \times 10^6$ 細胞 / mL ~ 約 8×10^6 細胞 / mL の範囲にあり；および / または

(e) における初期細胞密度は定常状態の生産細胞密度の少なくとも 1 0 % である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

組換えタンパク質を生産する方法であって；

(a) 槽内に含まれている第 1 の培養培地に複数の組換え哺乳動物細胞を加えて第 1 の細胞培養物を得る工程；

(b) 第 1 の細胞培養物を約 $1 . 0 \times 10^6$ 細胞 / mL ~ 約 $5 . 0 \times 10^6$ 細胞 / mL の細胞密度範囲まで回分培養する工程

(c) 灌流バイオリアクター内に含まれている第 2 の培養培地に、ある体積の工程 (b) の第 1 の細胞培養培地を加えて、約 $0 . 25 \times 10^6$ 細胞 / mL ~ 約 $0 . 5 \times 10^6$ 細胞 / mL の範囲の初期細胞密度を有する第 2 の細胞培養物を得る工程；

(d) 第 2 の細胞培養物を約 5×10^6 細胞 / mL ~ 約 60×10^6 細胞 / mL の間の細胞密度範囲まで灌流培養する工程；

(e) 生産用バイオリアクター中に含まれる第 3 の培養培地に、ある体積の工程 (d) の第 2 の細胞培養物を加えて、約 $0 . 25 \times 10^6$ 細胞 / mL ~ 約 8×10^6 細胞 / mL の範囲の初期細胞密度を有する生産細胞培養物を得る工程；

(f) 組換え哺乳動物細胞が組換えタンパク質を分泌することが可能となる条件下で、生産細胞培養物を灌流培養する工程；および

(g) 生産細胞培養物から組換えタンパク質を収穫する工程を含む前記方法。

【請求項 10】

(a) における複数の組換え哺乳動物細胞を加える工程は；

凍結細胞バンクを解凍する工程；および

第 1 の培養培地に、ある体積の解凍細胞バンクを加える工程を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

(a) における複数の組換え哺乳動物細胞を加える工程は、第 1 の培養培地に複数の組換え哺乳動物細胞を含むある体積の第 3 の細胞培養物を加える工程を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

(1) 槽内に含まれている第 4 の培養培地に複数の組換え哺乳動物細胞を加えて、第 3 の細胞培養物を得る工程；

(2) (1) の第 3 の細胞培養物を約 $1 . 0 \times 10^6$ 細胞 / mL ~ 約 $5 . 0 \times 10^6$ 細胞 / mL の細胞密度範囲まで回分培養する工程

をさらに含み、

ある体積の(2)における第3の細胞培養物が(a)において第1の培養培地に加えられる、

請求項11に記載の方法。

【請求項13】

(1)における複数の組換え哺乳動物細胞を加える工程は：

凍結細胞バンクを解凍する工程；および

第4の培養培地に、ある体積の解凍細胞バンクを加える工程を含む、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

(a)における第1の細胞培養物は、約1.0L～約50Lの体積範囲を有する、請求項9に記載の方法。

【請求項15】

(a)における槽は、約1.5L～約100Lの内部容積範囲を有し；

(c)における灌流バイオリアクターは、約7.5L～約1,000Lの内部容積範囲を有し；および/または

(e)における生産用バイオリアクターは、約150L～約25,000Lの内部容積範囲を有する、請求項9に記載の方法。

【請求項16】

(e)における初期細胞密度は、約 2.0×10^6 細胞/mL～約 8×10^6 細胞/mLの範囲にあり；および/または

(e)における初期細胞密度は定常状態の生産細胞密度の少なくとも10%である、請求項9に記載の方法。

【請求項17】

(f)における灌流培養により、生産細胞培養物は、約1日間～約10日間の間の期間で定常状態の生産細胞密度に到達する、請求項9に記載の方法。

【請求項18】

(g)における収穫は、生産用バイオリアクターからの培養培地を抜き取る工程を含む、請求項9に記載の方法

【請求項19】

取り出された培養培地から組換えタンパク質を単離する工程をさらに含む、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

単離は、統合された連続法を使用して行われる、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

単離組換えタンパク質を医薬剤に製剤化する工程をさらに含む、請求項19に記載の方法。