

【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21年8月27日(2009.8.27)

【公表番号】特表2009-502167(P2009-502167A)

【公表日】平成21年1月29日(2009.1.29)

【年通号数】公開・登録公報2009-004

【出願番号】特願2008-523951(P2008-523951)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 1 2 N 9/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 Z N A B

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 16/18

C 0 7 K 16/46

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 N 9/00

【手続補正書】

【提出日】平成21年7月7日(2009.7.7)

【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】

T 6 9 E、S 7 0 E および S 8 7 E 突然変異を有する B c l - 2 をコードする遺伝子を含むアポトーシス阻害剤をトランスフェクトし、無血清培地中で増殖成長するように適応させた哺乳動物細胞株。

【請求項 2】

関心対象のタンパク質および選択可能なマーカータンパク質をコードするプラスミドを無血清培地中でさらにトランスフェクトした、請求項 1 の細胞株。

【請求項 3】

前記遺伝子は配列番号 3 の核酸配列を含む、請求項 1 の細胞株。

【請求項 4】

プラスミドが抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、多価抗体またはそのフラグメントをコードする、請求項 2 の細胞株。

【請求項 5】

アポトーシス阻害剤をトランスフェクトした細胞株からのタンパク質生産量が、親細胞株で観察される量の 2 倍である、請求項 2 の細胞株。

【請求項 6】

細胞株が、S p 2 / 0、S p 2 / 0 派生細胞株、N S O または Y B 2 / 0 からなる群よ

り選択される骨髓腫細胞株である、請求項 2 の細胞株。

【請求項 7】

請求項 2 に記載の細胞株によって生産されるタンパク質。

【請求項 8】

タンパク質が、抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、多価抗体またはそのフラグメントである、請求項 7 のタンパク質。

【請求項 9】

タンパク質が成長因子、ホルモン、インターロイキン、インターフェロン、サイトカインまたは酵素である、請求項 7 のタンパク質。

【請求項 10】

タンパク質が、EPO、G-CSF、GM-CSF、EGF、VEGF、トロンボポエチン、IL-1~IL-31、インターフェロン-、インターフェロン- およびインターフェロン- からなる群より選択される、請求項 9 のタンパク質。

【請求項 11】

a) アポトーシス阻害剤をトランスフェクトした細胞株であって、無血清培地中で増殖成長するように適応させた細胞株を取得するステップと、ここで、前記アポトーシス阻害剤はT69E、S70EおよびS87E突然変異を有するBcl-2をコードする遺伝子を含み、

b) アポトーシス阻害剤をトランスフェクトした前記細胞株を貯蔵のために凍結するステップと、

c) 生産されるべき一つ以上のタンパク質をコードする一つ以上の発現ベクターをトランスフェクトする前に、前記凍結細胞株を融解するステップと、

d) 前記細胞株に一つ以上の発現ベクターを無血清条件下でトランスフェクトするステップと、

e) 前記細胞株を無血清培地中で培養することにより、前記一つ以上の発現ベクターから一つ以上のタンパク質を生産するステップとを含む、タンパク質生産の方法。

【請求項 12】

前記遺伝子は配列番号 3 の核酸配列を含む、請求項 11 の方法。

【請求項 13】

発現ベクターが抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、多価抗体またはそのフラグメントをコードする、請求項 11 の方法。

【請求項 14】

前記細胞株が骨髓腫細胞株である、請求項 11 の方法。

【請求項 15】

骨髓腫細胞株がSp2/0もしくはその派生細胞株、マウスNSOまたはラットYB2/0細胞株である、請求項 14 の方法。

【請求項 16】

少なくとも一つのカスパーゼ阻害剤を含む培地中で細胞株を増殖成長させることをさらに含む、請求項 11 の方法。

【請求項 17】

前記カスパーゼ阻害剤が、カスパーゼ-1阻害剤、カスパーゼ-3阻害剤、カスパーゼ-9阻害剤、カスパーゼ-12阻害剤および汎カスパーゼ阻害剤からなる群より選択される、請求項 16 の方法。

【請求項 18】

エリスロポエチンを含む培地中で細胞株を増殖成長させることをさらに含む、請求項 11 の方法。

【請求項 19】

カスパーゼ阻害剤が、Z-VAD-fmk、Ac-DEVD-cho(配列番号7)、AvenおよびXIAPからなる群より選択される、請求項 17 の方法。

【請求項 20】

非トランスフェクト細胞が S p 2 / 0 であり、アポトーシス阻害剤が B c l - E E E であり、発現ベクターがプラスミド p d H L 2 を含み、B c l - E E E および発現ベクターをトランスフェクトした細胞株が、バイオリアクター中でタンパク質を生産するために選択され、増殖される、請求項 11 の方法。