

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2012133474/10, 18.01.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
18.01.2010 ЕР 10150980.0
21.01.2010 US 61/297,011

(43) Дата публикации заявки: 27.02.2014 Бюл. № 6

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 20.08.2012(86) Заявка РСТ:
ЕР 2011/050594 (18.01.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/086197 (21.07.2011)Адрес для переписки:
191186, Санкт-Петербург, а/я 230, "АРС-
ПАТЕНТ", И.И. Липатовой

(71) Заявитель(и):

НОВО НОРДИСК ХЕЛС КЕА АГ (CH)

(72) Автор(ы):

БЬЕЛКЕ Яис Розе (DK)

RU 2012133474 A

(54) ОЧИСТКА ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

(57) Формула изобретения

1. Способ очистки композиции белка/полипептида с различным содержанием гамма-карбоксиглутаминовой кислоты до желаемого содержания гамма-карбоксиглутаминовой кислоты из образца, содержащего смесь видов указанного белка/полипептида с различным содержанием гамма-карбоксиглутаминовой кислоты, при этом указанный способ включает следующие этапы:

(а) загрузку указанного образца белка/полипептида на иммуноаффинный хроматографический материал, содержащий связывающую группировку для гамма-карбоксиглутаминовой кислоты;

(б) элюирование указанного белка/полипептида; и

(в) выбор фракции, полученной из указанного элюата, где белок/полипептид во фракции имеет требуемое содержание гамма-карбоксиглутаминовых кислот;

и характеризуется тем, что общая концентрация белка/полипептида в указанном образце превышает связывающую способность иммуноаффинного хроматографического материала.

2. Способ по п.1, где белок/полипептид представляет собой фактор IX.

3. Способ по п.1, где связывающая способность иммуноаффинного хроматографического материала превышена более чем на какое-либо значение из 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 140, 150, 200, 250, 500, 750 или 1000%, в частности более чем

RU 2012133474 A

на 120%, или более чем на 150%, или более чем на 250%.

4. Способ по п.3, в котором связывающая способность иммуноаффинного хроматографического материала превышена на значение между 100-400%, например на 100-200%, в частности на 100-150%.

5. Способ по п.1, где указанный способ включает выбор фракции, полученной из указанного элюата, и имеющий повышенную долю форм фактора IX №1-11-Gla и/или №1-12-Gla по сравнению с долей форм фактора IX №1-11-Gla и/или №1-12-Gla в образце, который должен быть очищен.

6. Способ по п.5, который включает выбор фракции, полученной из указанного элюата, и имеющий повышенную долю форм фактора IX №1-10-Gla по сравнению с долей форм фактора IX №1-10-Gla в образце, который должен быть очищен.

7. Способ по п.1, где указанный элюирующий буфер и/или уравновешивающий буфер имеет pH между 5,0 и 8,5, например 7,5.

8. Способ по п.1, где хлорид натрия присутствует в элюирующем буфере в концентрации между 10 мМ и 100 мМ, такой как 50 мМ.

9. Способ по п.1, где связывающая группировка для Gla включает Gla-направленное антитело.

10. Способ по п.9, где указанное антитело является чувствительным к сворачиванию домена Gla в присутствии кальция, магния или других двухвалентных катионов, и/или антитело распознает эпитоп, содержащий конкретные остатки Gla.

11. Способ по п.9, в котором Gla-направленное антитело содержит 3F14A3B6 (SEQ ID №№1 и 2).

12. Способ по п.1, где иммуноаффинный материал содержит сефарозные бусины, такие как предварительно активированные сефарозные бусины, в частности CNBr-Sepharose 4 FF.

13. Способ по п.1, где уравновешивающий буфер и промывочный буфер также содержат ионы кальция, такие как хлорид кальция.

14. Способ по п.13, где указанные ионы кальция присутствуют в концентрации более 0,5 мМ (например, более 0,5, 1,0, 1,5 или 2,0 мМ хлорида кальция, такой как 3,0, 5,0, 8,0 или 10,0 мМ хлорида кальция, в частности, 2 или 5 мМ хлорида кальция), либо концентрация ионов кальция находится в пределах 0,5-10 мМ, 1-8 мМ, 1-5 мМ и 2-5 мМ.

15. Способ по п.1, где способ перегрузки на основе иммуноаффинности может быть объединен со вторым этапом, на котором Gla-виды также разделяют/очищают с использованием метода, основанного на анионной хроматографии.

НЕ9А Изменение адреса для переписки с заявителем

Адрес для переписки:

197101, Санкт-Петербург, а/я 128, "АРС-ПАТЕНТ", И.И. Липатовой

Дата публикации: 27.02.2014 Бюл. № 06/2014