

【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】令和 3 年 9 月 9 日 (2021.9.9)

【公開番号】特開 2020-40952 (P2020-40952A)
 【公開日】令和 2 年 3 月 19 日 (2020.3.19)
 【年通号数】公開・登録公報 2020-011
 【出願番号】特願 2019-193276 (P2019-193276)
 【国際特許分類】

C 0 7 K 1/18 (2006.01)

C 0 7 K 1/22 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 1/18

C 0 7 K 1/22

A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 39/395 H

A 6 1 K 39/395 D

【誤訳訂正書】
 【提出日】令和 3 年 6 月 22 日 (2021.6.22)
 【誤訳訂正 1】
 【訂正対象書類名】明細書
 【訂正対象項目名】0 0 0 9
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【0 0 0 9】

代替的には、本発明は、(a) 関心ポリペプチドおよび種々の混入物を含む組成物を、陽イオン交換膜に通し、前記ポリペプチドの p I を約 1 から約 5 p H 単位下回る p H を有するバッファ、および、約 40 m S / c m 以下の伝導率を含む操作条件で、前記ポリペプチドおよび前記膜は反対電荷を有して、前記ポリペプチドおよび少なくとも 1 つの前記混入物を前記膜に結合させ、(b) 前記関心ポリペプチドを含む、前記イオン交換膜からの分画を採取し、(c) 前記ポリペプチドを含む前記組成物について 1 つまたはそれ以上のさらなる精製工程を行い、(d) 前記精製ポリペプチドを前記溶出液から回収することを含む、タンパク質の精製のための下流のクロマトグラフィー工程の効率を高める方法に関する。

【誤訳訂正 2】
 【訂正対象書類名】明細書
 【訂正対象項目名】0 0 1 0
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【0 0 1 0】

さらに代替的には、本発明は、(a) 関心ポリペプチドおよび種々の混入物を含む組成物を、陰イオン交換膜に通し、前記ポリペプチドの p I を約 1 から約 5 p H 単位上回る p H を有するバッファ、および、約 40 m S / c m 以下の伝導率を含む操作条件で、前記ポリペプチドおよび前記膜は反対電荷を有して、前記ポリペプチドおよび少なくとも 1 つの前記混入物を前記膜に結合させ、(b) 前記関心ポリペプチドを含む、前記イオン交換膜からの分画を採取し、(c) 前記ポリペプチドを含む前記組成物について 1 つまたはそれ以上のさらなる精製工程を行い、(d) 前記精製ポリペプチドを前記溶出液から回収する

ことを含む、タンパク質の精製のための下流のクロマトグラフィー工程の効率を高める方法に関する。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0093

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0093】

オーバーロードモードにおける膜陽イオン交換クロマトグラフィーのランに関し、ロードする物質の pH は、抗体の pI を約 1 から約 5 pH 単位下回って調製され、ロードする物質の伝導率は、pH に応じて約 40 mS / cm 以下に調節され、抗体は、その後、膜を通過して放出される。いくつかの実施形態では、ロードする物質の pH は、抗体の pI を約 1 から約 4 pH 単位、約 1 から約 3 pH 単位、約 1 から約 2 pH 単位、または約 1 pH 単位、下回って調製される。他の実施形態では、ロードする物質の伝導率は、pH に応じて、約 20 mS / cm 以下または約 10 mS / cm 以下に調節される。ロードの pH は抗体の pI よりも低いので、抗体は（正に帯電しており）最初には通過しないであろう。さらに、抗体は、陽イオン交換の負の官能基に静電的に結合しているであろう。これは、抗体（正）および膜（負）が反対電荷を有しているからである。プロテイン A アフィニティクロマトグラフィー中に抗体とともに溶出する、多くの混入物、例えば、CHOP または ECP のような宿主細胞のタンパク質、ゲンタマイシンのようなアミノグリコシド系抗生物質、およびポリエチレンジアミン（PEI）のようなイオンポリマー添加物、の pI は、抗体の pI とは少しだけ異なっている、つまり、それらの pI は約 0.05 から約 0.2 pI 単位だけ異なり得るので、「塩基性」の抗体のようなこれらの混入物もまた、膜に結合するであろう。プロテイン A クロマトグラフィーを使用しない精製スキームでは、ゲンタマイシンもしくは PEI または他の不純物は、膜が使用されない限り、IEX カラムの性能を妨害するのに十分に高い濃度で留まるであろう。理論に拘束されることなく、最小限のイオン遮蔽により電荷を誘発する pH および伝導率条件での、オーバーロードモードの膜陽イオン交換クロマトグラフィーのランに関し、競合吸着が発生し、混入物は優先的に膜に結合し、または、さもなければ、効果的に抗体を膜から「移動」させ（RR Drager, FE Regnier, J Chromatogr. 359:147-55 (1986)）、結合後に、抗体をマトリックスまたはフロースルーから「溶出」させて、溶出液に回収することを可能にするようである。

【誤訳訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0094

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0094】

オーバーロードモードにおける膜陰イオン交換クロマトグラフィーのランに関し、ロードする物質の pH は、抗体の pI を約 1 から約 5 pH 単位上回って調製され、ロードする物質の伝導率は、pH に応じて約 40 mS / cm 以下に調節され、抗体は、その後、膜を通過して放出される。いくつかの実施形態では、ロードする物質の pH は、抗体の pI を約 1 から約 4 pH 単位、約 1 から約 3 pH 単位、約 1 から約 2 pH 単位、または約 1 pH 単位、上回って調製される。他の実施形態では、ロードする物質の伝導率は、pH に応じて、約 20 mS / cm 以下または約 10 mS / cm 以下に調節される。ロードの pH は抗体の pI よりも高いので、抗体は（負に帯電しており）最初には通過しないであろう。さらに、抗体は、陰イオン交換の正の官能基に静電的に結合しているであろう。これは、抗体（負）および膜（正）が反対電荷を有しているからである。プロテイン A アフィニティクロマトグラフィー中に抗体とともに溶出する、多くの混入物、例えば、CHOP のような宿主細胞のタンパク質の pI は、抗体の pI とは少しだけ異なっている、つまり、それ

らの pI は約 0.05 から約 0.2 pI 単位だけ異なり得るので、「酸性」の抗体のようなこれらの混入物もまた、膜に結合するであろう。理論に拘束されることなく、最小限のイオン遮蔽により電荷を誘発する pH および伝導率条件での、オーバーロードモードの膜陰イオン交換クロマトグラフィーのランに関し、競合吸着が発生し、混入物は優先的に膜に結合し、または、さもないければ、効果的に抗体を膜から「移動」させ (RR Drager, FE Regnier, J Chromatogr. 359:147-55 (1986))、結合後に、抗体をマトリックスまたはフロースルーから「溶出」させて、溶出液に回収することを可能にするようである。

【誤訳訂正 5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0145

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0145】

スモールスケール陰イオン交換膜収率

比較対象に関し、mAb 2 は、7.7 の等電点を越えて陰イオン交換膜を使用する試験のために選択された。タンパク質は高い pH では脱アミドおよび凝集する傾向があるので、類似の試験は mAb 1 では行わなかった。 pH 5.5 および 9 mS/cm の陽イオン交換プールは、1.5 M トリス塩基を用いて、 pH を 8.0 に調節した。フィードストックは、その後、3 つの分離プールに分けられ、精製水を用いて伝導率が調節された。最初のプールは 10 mS/cm であり、2 番目および 3 番目のプールは 7 mS/cm および 4 mS/cm にそれぞれ調節された。全ての 3 つのプールは、 pH 8.0 に維持された。各フィードストリームは、その後、スモールスケールの 0.35 mL ユニタング (商標) Q で 600 MV/時の一定流速にて処理された。mAb 3 は pH 8.0 で、 pI を 0.3 pH 単位上回り、よって、抗体は負に帯電した。ロードおよびフロースループールは、抗体濃度に関して分析された。図 4 は、収率が全ての 3 つの pH 濃度に類似し、最初に 200 g/L の負荷密度下で急激に増加し、約 1000 g/L の負荷密度のあとに 96% 以上であることを示す。

【誤訳訂正 6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0146

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0146】

スモールスケール陽イオン交換膜の不純物クリアランス

陽イオン交換膜の不純物クリアランスを評価するために、 pH 5.5 から 3.2 mS/cm の mAb 3 プロテイン A プールは、スモールスケールの 0.18 mL ユニタング (商標) S 膜で 1333 MV/時の一定流速にて処理された。mAb 3 のロードは、算出された pI を 3.4 単位下回り、よって、抗体は正に帯電した。ロード、フロースルー分画、および溶出サンプルが分析され、CHOP に関する結果は図 5 に示される。データは、ユニタング (商標) S が、最初に 438 から 109 ppm まで CHOP を低減することを示す。負荷密度が 55, 300 g/L に達した時、CHOP は 318 ppm に増加した。高い塩を含む溶液を用いて膜を溶出した。塩のイオンは、電荷を遮蔽するために使用され、よって、静電的相互作用を妨害し、タンパク質を膜表面から離脱させて、移動相中に自由に移動させる。溶出プールの分析は、静電力による膜への CHOP 結合を裏付ける、不純物の濃縮を示す。

【誤訳訂正 7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0147

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0147】

吸着材性能をさらに評価するために、 $\text{pH } 5.5$ かつ 6.0 mS/cm での $\text{mAb } 3$ 陰イオン交換プールは、スモールスケールの 0.18 mL ムスタング（商標）S 膜で 667 MV/時 の一定流速にて処理された。 $\text{mAb } 3$ の pH は、 pI を 3.4 pH 単位下回り、よって抗体は正に帯電した。フィードおよびフロースルーグラブサンプルは、 mAb 、 CHOP 、およびゲンタマイシン濃度について分析された。フィードおよびグラブサンプル濃度を比較するために、膜負荷密度の関数としての、 C/C_0 のグラフ（グラブサンプル/ロード）が生成された。図 6 に示されるように、 mAb の C/C_0 値は、 $2 \sim 16 \text{ kg/L}$ の負荷密度で 1.0 に近く、グラブサンプル濃度がロードした濃度とほぼ同一であり、改めて収率が高くなるであろうことが示唆される。逆に、 CHOP およびゲンタマイシンの C/C_0 値は低く、 0.2 以下で $2 \sim 16 \text{ kg/L}$ の負荷密度であることから、グラブサンプル濃度がロードした濃度よりもかなり低く、 mAb によるオーバーロードにも関わらず、ムスタング（商標）S がこれらの不純物の大部分を取り除いていることが示唆される。

【誤訳訂正 8】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a. 関心ポリペプチドおよび 1 以上の混入物を含む組成物をイオン交換膜に通すこと、ここで、前記 1 以上の混入物が、宿主細胞タンパク質、アミノグリコシド系抗生物質、核酸、関心ポリペプチドのバリエーション、他のポリペプチド、エンドトキシン、又はウイルス混入物の内の 1 以上であり、前記ポリペプチドおよび前記膜が、前記ポリペプチドおよび少なくとも 1 つの混入物を前記膜に結合させる操作条件において、反対の荷電を有し、前記操作条件は、前記ポリペプチドの荷電を促進するように前記ポリペプチドの pI とは十分に区別される pH と、バッファイオンによる荷電の遮蔽を阻害するのに効果的な低イオン強度とを有するバッファを含み、

b. 少なくとも 1 つの前記混入物が前記膜に結合したままで、前記関心ポリペプチドが主に溶出液中にあるように、前記イオン交換膜をオーバーロードさせること、

c. 前記関心ポリペプチドを含む、前記イオン交換膜からの前記溶出液を採取すること、

d. 前記関心ポリペプチドを含む、前記膜の溶出液に対して、前記膜と類似の荷電のイオン交換クロマトグラフィー工程を行うこと、および

e. 精製された前記ポリペプチドを、前記荷電のイオン交換クロマトグラフィー工程の前記溶出液から回収すること

を含む、タンパク質の精製のための下流のクロマトグラフィー工程の効率を高める方法。

【請求項 2】

a. 関心ポリペプチドおよび 1 以上の混入物を含む組成物を、イオン交換膜に通すこと、ここで、前記ポリペプチドおよび前記膜が、前記ポリペプチドおよび少なくとも 1 つの混入物を前記膜に結合させる操作条件において、反対の荷電を有し、前記操作条件は、前記ポリペプチドの荷電を促進するように前記ポリペプチドの pI とは十分に区別される pH と、バッファイオンによる荷電の遮蔽を阻害するのに効果的な低イオン強度とを有するバッファを含み、

b. 少なくとも 1 つの前記混入物が前記膜に結合したままで、前記関心ポリペプチドが主に溶出液中にあるように、前記イオン交換膜をオーバーロードさせること、

c. 前記関心ポリペプチドを含む、前記イオン交換膜からの前記溶出液を採取すること、

d. 前記関心ポリペプチドを含む、前記膜の溶出液に対して、前記膜と類似の荷電のイ

オン交換クロマトグラフィー精製工程を行うこと、および

e. 精製された前記ポリペプチドを、前記荷電のイオン交換クロマトグラフィー工程の前記溶出液から回収すること
を含み、

さらなる精製手順が、膜イオンクロマトグラフィーに先立って又は続いて実施され、前記さらなる精製手順が、疎水性相互作用クロマトグラフィー、エタノール沈殿、熱沈殿、ポリエチレングリコール（PEG）沈殿、等電点フォーカシング、逆相HPLC、クロマトグラフィー、陰イオン交換クロマトグラフィー、陽イオン交換クロマトグラフィー、混合モードのイオン交換、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、硫酸沈殿、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、親水性荷電誘導クロマトグラフィー、高性能タンジェンシャルフロー・フィルトレーション（HPTFF）、およびアフィニティークロマトグラフィーから選択される、
タンパク質の精製のための下流のクロマトグラフィー工程の効率を高める方法。

【請求項3】

前記さらなる精製手順は、プロテインAクロマトグラフィー、プロテインGクロマトグラフィー、捕捉剤として抗体、抗原、基質、又はリガンドを用いるクロマトグラフィーから選択されるアフィニティークロマトグラフィーである、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記1以上の混入物は、宿主細胞タンパク質である、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記宿主細胞タンパク質は、チャイニーズハムスター卵巢タンパク質（CHOP）又はE.coliタンパク質（ECP）である、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

前記混入物は、アミノグリコシド系抗生物質である、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

前記イオン交換膜は、0.1から100 μm のポアサイズを有する、請求項1から6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

前記イオン交換膜は、モノリス又はデプスフィルターにより置き換えられる、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

前記イオン交換膜は、陽イオン交換膜である、請求項1から8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記pHは、前記ポリペプチドの前記pIを約1から約4 pH単位下回る、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記陽イオン交換膜は、陽イオン交換モノリス又はデプスフィルターである、請求項9又は10に記載の方法。

【請求項12】

前記イオン交換膜は、陰イオン交換膜である、請求項1から8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

前記pHは、前記ポリペプチドの前記pIを約1から約4 pH単位上回る、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記バッファの伝導率は約40 mS/cm未満である、請求項1から13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記膜は混合モードの吸着材である、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記ポリペプチドは C H 2 / C H 3 領域を含む、請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記ポリペプチドは抗体である、請求項 1 から 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記抗体はモノクローナル抗体である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

精製した前記ポリペプチドを薬学的に許容可能な担体と組み合わせることにより、薬学的組成物を調製することをさらに含む、請求項 1 から 18 のいずれか一項に記載の方法。