

【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 25 年 2 月 21 日 (2013.2.21)

【公表番号】特表 2012-514637 (P2012-514637A)

【公表日】平成 24 年 6 月 28 日 (2012.6.28)

【年通号数】公開・登録公報 2012-025

【出願番号】特願 2011-545321 (P2011-545321)

【国際特許分類】

C 0 7 K 1/32 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 1/32

C 0 7 K 16/00

【手続補正書】

【提出日】平成 24 年 12 月 27 日 (2012.12.27)

【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】

1 種以上の標的生体分子又は化合物を水性液体から単離する方法であって、
 (a) 容器内で前記水性液体を熱応答性の親水性ポリマー及び必要ならば 1 種以上の添加塩と合わせる段階、
 (b) (a) で得られた液体混合物を、ポリマーがその曇り点より高い結果として 1 ポリマー二相系を形成し、前記標的生体分子又は化合物は一方の相、優先的にはポリマーが濃縮されていない相中に分配されるのに対し、非標的化合物及び粒子は相界面又はポリマーリッチ相に様々に異なる程度に分配されるような条件下で穏やかに混合する段階、
 (c) 任意には、標的含有相を新しい相補的な相と混合することで別の分配に付す段階、
 (d) 標的生体分子をそれが濃縮された相から回収する段階、並びに
 (e) 任意には、ポリマーリッチ相からのポリマーを分配単位操作に再循環させる段階を含む方法。

【請求項 2】

1 種以上の標的生体分子又は化合物を単離する多段階方法であって、発酵液又は類似のバイオマス含有供給液の清澄化が請求項 1 記載の方法によって実施される、方法。

【請求項 3】

ポリマーがその主成分の 1 つとしてエチレンオキシドを含むポリ(エーテル)であり、4 ~ 100 の曇り点を示す、請求項 1 又は請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

前記ポリマーの分子量が 900 ~ 100000 Da の範囲内にある、請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】

熱応答性ポリマーが、ポリ(エチレン)グリコール(PEG)、B re ox を含むエチレンオキシドプロピレンオキシド(EOP O)コポリマー、EOP O E O ブロックコポリマー P l u r o n i c (商標) を含む EOP O ブロックコポリマー、及びエチルヒドロキシエチルセルロース(EHEC)を含むエトキシ又は他のオキシ基修飾多糖類からなる群から選択される、請求項 1 乃至請求項 4 のいずれか 1 項 記載の方法。

【請求項 6】

ポリマーが水溶液中で自己会合する傾向が主として熱応答性でなく pH 応答性である、請求項 1 乃至請求項 5 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

添加塩の濃度が 1 ~ 500 mM の範囲内、好ましくは 100 ~ 300 mM の範囲内にある、請求項 1 乃至請求項 6 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 8】

塩が、 NaCl 、 Na_2PO_4 、 KPO_4 、 NaSO_4 、クエン酸カリウム、クエン酸ナトリウム、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、酢酸ナトリウム及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される、請求項 1 乃至請求項 7 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 9】

全ポリマー含有量が約 4 ~ 20 % (w/w) を占める、請求項 1 乃至請求項 8 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 10】

二相系が、約 4 ~ 20 % の EOPO、好ましくは約 5 ~ 15 % の EOPO を含む水性ポリマー二相系である、請求項 1 乃至請求項 9 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 11】

段階 (a) における pH がほぼ中性である、請求項 1 乃至請求項 10 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 12】

液体が発酵ブロスである、請求項 1 乃至請求項 11 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 13】

標的生体分子又は化合物が、抗体又はそのフラグメントのようなタンパク質である、請求項 1 乃至請求項 12 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 14】

標的生体分子又は化合物がポリマーが濃縮されていない相から単離される、請求項 1 乃至請求項 13 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 15】

前記二相が一方又は他方の相中への優先的な分配を示す疎水性リガンド又は他の親和性リガンドの存在下で形成され、前記親和性リガンドが任意にポリマー修飾されている、請求項 1 乃至請求項 14 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 16】

混合及び相形成が、任意には揺動プラットフォームのような可動プラットフォームに連結されたプラスチックバッグ中で実施される、請求項 1 乃至請求項 15 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 17】

さらに、プロテイン A に基づくアフィニティークロマトグラフィーのような 1 以上の液体クロマトグラフィー段階を含む、請求項 1 乃至請求項 16 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 18】

液体クロマトグラフィーに続いて、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー又は多モードイオン交換クロマトグラフィーからなる 1 以上の段階を含む、請求項 17 記載の方法。

【請求項 19】

ポリマーが濃縮されていない相が 2 以上の相のうちの上部低密度相又は高密度相である、請求項 1 乃至請求項 18 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 20】

標的含有相が、新しいポリマー又は再循環ポリマー及び他の成分の部分添加によってさらなる相分配に付される、請求項 1 乃至請求項 19 のいずれか 1 項記載の方法。