

【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】令和6年9月9日(2024.9.9)

【公開番号】特開2024-98108(P2024-98108A)
【公開日】令和6年7月19日(2024.7.19)
【年通号数】公開公報(特許)2024-134
【出願番号】特願2024-84163(P2024-84163)
【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 P 21/02(2006.01)

C 1 2 P 21/08(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】令和6年8月30日(2024.8.30)

【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】

デュピルマブの改良された生成のために組換え真核細胞を培養する方法であって、

(a) 増殖期の間に、規定された細胞培養培地中で組換え真核細胞を増殖する工程であって、前記細胞培養培地が、グルタミンを有しない工程と、

(b) 0.1 mM～10 mMのL-タウリンと、

0 mM～11.2 mMのアラニン、2.4 mM～11.9 mMのアルギニン、1.3 mM～33.3 mMのアスパラギン、1.5 mM～93.9 mMのアスパラギン酸、1.1 mM～19.9 mMのシステイン、1.4 mM～47.6 mMのグルタミン酸、0 mM～16.7 mMのグリシン、1 mM～9.5 mMのヒスチジン、1.5 mM～22.9 mMのイソロイシン、1.5 mM～38.1 mMのロイシン、2.7 mM～24.6 mMのリジン、1.3 mM～13.4 mMのメチオニン、1.2 mM～18.2 mMのフェニルアラニン、1.7 mM～26.1 mMのプロリン、1.9 mM～57.1 mMのセリン、1.7 mM～33.6 mMのトレオニン、0.5 mM～14.7 mMのトリプトファン、0.9 mM～22.2 mMのチロシン、及び1.7 mM～34.1 mMのバリンのうちの1つ又はそれより多くとで前記規定された細胞培養培地を補足する工程と、

(c) 産生期においてデュピルマブを発現させる工程とを含み、

前記L-タウリンの添加は、L-タウリンを含まない細胞培養培地におけるデュピルマブを発現させる細胞と比較して、デュピルマブの力価を少なくとも3%増加させる、方法。

【請求項2】

前記細胞培養培地が、血清を有しない、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記アミノ酸もしくはアミノ酸塩の総量が、少なくとも20 mM～少なくとも115 mMである、請求項1に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 4】

前記アミノ酸もしくはアミノ酸塩の総量が、20 mM～115 mMである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

≤16 g/L の加水分解物で、前記細胞培養培地を補足する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

脂肪酸で、前記細胞培養培地を補足する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

アデノシン、グアノシン、シチジン、ウリジン、チミジン、及びヒポキサンチンのうちの 1 つ又はそれより多くを含むヌクレオシドで、前記細胞培養培地を補足する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 8】

カルシウム塩、マグネシウム塩及びリン酸塩で、前記細胞培養培地を補足する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記タウリンの補足が、前記産生期において少なくとも 3 回追加的にさらに提供される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記タウリンの補足が、前記産生期の間に毎日提供される、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 11】

前記規定された細胞培養培地が、0.09 mM～0.9 mM のオルニチンで補足される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記真核細胞が、CHO 細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

前記細胞は、増殖期において 35℃～38℃である第 1 の温度に維持され、産生期において 29℃～37℃である第 2 の温度に維持されており、前記第 1 の温度が、前記第 2 の温度より高い、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

30

デュピルマブの改良された生成のために組換え真核細胞を培養する方法であって、

(a) 増殖期の間に、規定された細胞培養培地中で細胞を増殖する工程と、

(b) 産生期の間に、0.1 mM～10 mM の L-タウリンで、前記規定された細胞培養培地を補足し、前記デュピルマブを発現させる工程と、

を含み、

前記 L-タウリンの添加は、L-タウリンを含まない細胞培養培地におけるデュピルマブを発現させる細胞と比較して、デュピルマブの力価を少なくとも 7 % 増加させ、前記増殖期の間における前記細胞の増殖が、35℃～38℃の温度で行なわれ、前記産生期の間におけるデュピルマブの発現が、29℃～37℃の温度で行なわれ、前記増殖期の温度が、前記産生期の温度より高い、方法。

40

【請求項 15】

前記 L-タウリンが、前記産生期の間に、1～5 回補足される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記 L-タウリンが、前記産生期の間に毎日補足される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

前記増殖期において、0.1 mM～10 mM の L-タウリンで、前記規定された細胞培養培地を補足する工程をさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 18】

50

前記規定された細胞培養培地が、 $0.09\text{ mM} \sim 0.9\text{ mM}$ のオルニチンで補足される、請求項14に記載の方法。

【請求項19】

前記真核細胞が、CHO細胞である、請求項14に記載の方法。

【請求項20】

デュピルマブを産生する方法であって、

(a) $0.1\text{ mM} \sim 10\text{ mM}$ のL-タウリンを含む細胞培養培地において、デュピルマブを発現する細胞を培養する工程であって、前記L-タウリンの添加は、L-タウリンを含まない細胞培養培地においてデュピルマブを発現する細胞と比較して、デュピルマブの力価を少なくとも3%増加させる、工程と、

10

(b) 前記細胞においてデュピルマブを産生する工程であって、デュピルマブが、前記培地において分泌される、工程とを含み、

前記細胞が、増殖期において $35^{\circ}\text{C} \sim 38^{\circ}\text{C}$ の温度で、産生期において $29^{\circ}\text{C} \sim 37^{\circ}\text{C}$ の温度で培養され、前記増殖期の温度が、前記産生期の温度より高い、方法。

【請求項21】

前記細胞は、L-タウリンを含まない細胞培養培地におけるデュピルマブを発現させる細胞と比較して、デュピルマブの力価を7%もしくはそれより多く増加させることができる、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

20

前記細胞が、CHO細胞である、請求項20に記載の方法。

【請求項23】

$0.09\text{ mM} \sim 0.9\text{ mM}$ のオルニチンで前記細胞培養培地を補足することをさらに含む、請求項20に記載の方法。

【請求項24】

デュピルマブを産生する方法であって、

少なくとも 0.1 mM のL-タウリンを含む細胞培養培地において組換え細胞株を培養する工程であって、前記組換え細胞株が、デュピルマブをコードする安定に組み込まれた核酸を含む、工程と、

前記細胞から、デュピルマブを産生する工程とを含み、

30

前記細胞培養培地へのL-タウリンの添加は、L-タウリンを含まない細胞培養培地において、前記組換え細胞株を培養することと比較して、デュピルマブの力価を少なくとも3%増加させ、

前記組換え細胞株が、増殖期において $35^{\circ}\text{C} \sim 38^{\circ}\text{C}$ の温度で、産生期において $29^{\circ}\text{C} \sim 37^{\circ}\text{C}$ で培養され、前記増殖期の温度が、前記産生期の温度より高い、方法。

【請求項25】

前記産生方法は、L-タウリンを含まない細胞培養培地における類似の産生方法と比較して、デュピルマブの力価を、少なくとも 0.1 g/L 増加させることができる、請求項24に記載の方法。

40

【請求項26】

前記産生方法は、L-タウリンを含まない細胞培養培地における類似の産生方法と比較して、デュピルマブの力価を、7%もしくはそれより多く増加させることができる、請求項24に記載の方法。

【請求項27】

前記組換え細胞株は、少なくとも6日間にわたりL-タウリン補足細胞培養培地において培養され、かつ、L-タウリンを有しない細胞培養培地において少なくとも6日間にわたり培養されたデュピルマブを発現させる組換え細胞株と比較して、より高い力価のデュピルマブを発現させる、請求項24に記載の方法。

【請求項28】

50

0.09 mM～0.9 mMのオルニチンで、前記細胞培養培地を補足することをさらに含む、請求項24に記載の方法。

【請求項29】

タウリン補足細胞培養培地においてデュピルマブを産生する方法であって、

(a) 細胞培養培地において、デュピルマブを発現するCHO細胞を培養する工程と、

(b) 0.1 mM～10 mMの量のL-タウリンで前記細胞培養培地を補足して、L-タウリン補足細胞培養培地を産生する工程と、

(c) 少なくとも6日間にわたり、工程(b)のタウリン補足細胞培養培地においてデュピルマブを発現するCHO細胞を培養する工程であって、前記デュピルマブが前記培地に分泌され、前記L-タウリンの添加は、L-タウリンを含まない細胞培養培地においてデュピルマブを発現するCHO細胞と比較して、デュピルマブの力価を少なくとも3%増加させる、工程と、

10

(d) デュピルマブを回収する工程とを含み、

前記CHO細胞が、増殖期において35℃～38℃の温度で、産生期において29℃～37℃の温度で培養され、前記増殖期の温度が、前記産生期の温度より高い、方法。

【請求項30】

前記工程(a)のL-タウリン補足細胞培養培地において少なくとも6日間培養されたデュピルマブを発現する細胞に由来するデュピルマブの力価は、L-タウリンを有しない(a)の細胞培養培地において少なくとも6日間培養された細胞に由来するデュピルマブの力価よりも、少なくとも8%高い、請求項29に記載の方法。

20

【請求項31】

前記産生方法は、L-タウリンを含まない細胞培養培地における類似の産生方法と比較して、デュピルマブの力価を、少なくとも0.1 g/L増加させることができる、請求項29に記載の方法。

【請求項32】

前記タウリン補足細胞培養培地が、0.09 mM～0.9 mMのオルニチンでさらに補足される、請求項29に記載の方法。

30

40

50