

【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1区分

【発行日】平成27年12月17日(2015.12.17)

【公表番号】特表2014-507368(P2014-507368A)

【公表日】平成26年3月27日(2014.3.27)

【年通号数】公開・登録公報2014-016

【出願番号】特願2013-552605(P2013-552605)

【国際特許分類】

C 0 1 B 25/455 (2006.01)

C 0 7 K 1/16 (2006.01)

【F I】

C 0 1 B 25/455

C 0 7 K 1/16

【誤訳訂正書】

【提出日】平成27年10月26日(2015.10.26)

【誤訳訂正1】

【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) 標的分子を含む試料をアパタイト固体表面に接触させる工程であって、それによってアパタイト固体表面を通して標的分子を流す、工程；

(b) アパタイト固体表面を十分な濃度及び体積の水酸化アルカリと接触させることにより、アパタイト固体表面を中和する工程；及び

(c) 水酸化アルカリで中和する工程の後でアパタイト固体表面を洗浄する工程であって、それによって吸着された生物学的化合物を溶出し、ここで、該洗浄する工程が、アパタイト固体表面をリン酸塩溶液に接触させることを含む、工程を含む、非吸着性フロースループロセスによる標的分子の精製に続いてアパタイト固体表面を洗浄するための方法。

【請求項2】

水酸化アルカリが、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム及び水酸化リチウムからなる群より選択される、請求項1記載の方法。

【請求項3】

水酸化アルカリの濃度が0.01～2Mである、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】

水酸化アルカリの濃度が0.1～1Mである、請求項1または2記載の方法。

【請求項5】

リン酸塩溶液のpHが、6.5あるいは10.0であるかまたは6.5～10.0である、請求項1記載の方法。

【請求項6】

リン酸塩溶液のリン酸濃度が、0.1Mあるいは1.0Mであるかまたは0.1～1.0Mである、請求項1または5記載の方法。

【請求項7】

アパタイトが、ヒドロキシアパタイト及びフルオロアパタイトからなる群より選択される、請求項1記載の方法。

【請求項8】

アパタイトが、セラミックヒドロキシアパタイトまたはセラミックフルオロアパタイトである、請求項1記載の方法。

【請求項 9】

アパタイトが非セラミックアパタイトである、請求項1記載の方法。

【請求項 10】

標的分子がタンパク質である、請求項1記載の方法。

【請求項 11】

タンパク質が、抗体、抗体断片、及び組換えタンパク質から選択される、請求項10記載の方法。

【請求項 12】

接触させる工程が、固体表面をpH5.0～7.5の溶液に接触させることを含む、請求項1記載の方法。

【請求項 13】

アパタイト固体支持体が、カラムの形態である、請求項1記載の方法。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0006

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0006】

いくつかの態様において、洗浄する工程は、固体表面をリン酸塩溶液と接触させることを含む。いくつかの態様において、リン酸塩溶液は、pHが6.5あるいは10.0であるかまたは6.5～10.0である。いくつかの態様においては、リン酸塩溶液のリン酸塩濃度は、0.1あるいは1.0であるかまたは0.1～1.0である。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0020

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0020】

発明の詳細な説明

1. 概説

本発明は、一部、標的分子のフロースルー精製の後、洗浄工程の前に、水酸化アルカリ溶液（例えばNaOH）が、アパタイト固体支持体の表面を中和するのに有効であるという驚くべき発見に基づいている。水素（またはヒドロニウム）イオンは、標的分子のフロースルー精製の後、アパタイト固体表面上で累積しうる。驚くべきことに、最初のカラムの中和を行わずに次の洗浄工程を（例えば、0.1～1.0Mリン酸塩溶液で）行くと、アパタイト支持体のカルシウムイオンの置換により、カラムの劣化が起こりうる。洗浄工程の前に、水酸化アルカリ溶液で固体支持体を中和することにより、アパタイト固体表面にさもなくば起こりうる、重大な劣化を避けることができる。

【誤訳訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0021

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0021】

最初に、標的分子を含む試料を、クロマトグラフィー技術で公知のフロースルーモードでアパタイト表面に接触させる。いくつかの態様において、フロースルーは、pH5.0あるいは7.5であるかまたは5.0～7.5の溶液を含む。典型的なバッファーは、例えば、リン酸塩バッファーを含み、任意で、ナトリウム（例えば、NaCl）を含む。フロースルーは、30

0～600cm/hrのような高い線流速で行われうる。しかし、50～200cm/hrの比較的遅い線流速でも適用可能である。

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0023

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0023】

本明細書中で発明に関連する「フロースルーモード」とは、精製される無処置の非凝集標的はクロマトグラフィー支持体を通して流れ、他の分子（例えば、いくつかの態様では、凝集物及び他の大きい分子（ウイルスを含む））は選択的に保持され、それによってこれらを取り除かれるようにバッファー条件が確立されているクロマトグラフィーの操作上のアプローチをいう。フロースルーモードの条件は、望まれる特定の標的によって開発されうる。本発明の範囲を限定する意図ではないが、以下の説明は、特定のタンパク質のために望ましいフロースルー条件の開発のための案内として提供される。典型的なフロースルー条件は、例えば以下のようなものである：フロースルーのためのカラム条件は、0.5～1.0N NaOHで殺菌、0.2MのpH6.5～7.5のリン酸ナトリウムで洗浄、カラムをフロースルーバッファー（5～20mMリン酸ナトリウムpH5.0～7.5）で平衡化、試料を適用して標的分子を含むフロースルーを回収、0.3～1倍のカラム容量の1M NaOHでカラムを洗浄、そしてカラムを0.1～1Mリン酸塩で洗浄する。しかしながら、任意のフロースルー条件が本発明のために企図される。

【誤訳訂正6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0027

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0027】

典型的な洗浄溶液は、pHが約6.5～10.0の、約0.1～1.0Mのリン酸塩バッファーである。しかし、任意の洗浄条件が本発明のために企図される。バッファーは、任意に他の塩（例えば、KCl、NaCl）もまた含むうるが、塩は、いったん表面が中和されれば一般的には必要がない。

【誤訳訂正7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0037

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0037】

アパタイトのクロマトグラフィーカラムは、pH6.5の5mMリン酸ナトリウムバッファーで平衡化される。試料の平衡バッファー中溶液、または標的分子を含む試料バッファーがアパタイトカラムに適用され、標的分子の精製は、それをアパタイトに通して流すことによって達成される。吸着された水素イオンは、カラムを十分な量の強塩基、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、または水酸化リチウムで溶出することによって中和される。最後に、アパタイトは、十分な濃度のリン酸塩バッファーで洗浄され、吸着された生物学的化合物、例えばDNA、塩基性タンパク質、及びエンドトキシン等が溶出する。