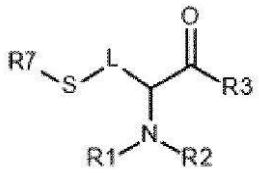
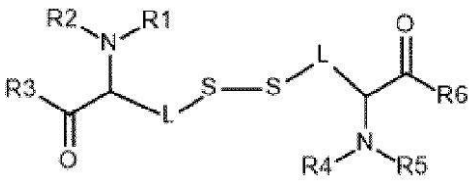
【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和3年11月4日(2021.11.4)

【公表番号】特表2021-503938(P2021-503938A)
【公表日】令和3年2月15日(2021.2.15)
【年通号数】公開・登録公報2021-007
【出願番号】特願2020-529609(P2020-529609)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　5/00　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　16/00　(2006.01)
Ｃ１２Ｐ　21/02　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/13　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　5/00
Ｃ０７Ｋ　16/00　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｐ　21/02　Ｃ
Ｃ１２Ｎ　15/13

【手続補正書】
【提出日】令和3年9月21日(2021.9.21)
【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】
細胞培養において産生される組換えタンパク質の集団の不均一性を減少させる方法であって、前記方法が、細胞培養培地中で組換えタンパク質を産生する宿主細胞を成長させる工程を含み、細胞培養培地が１つ又は複数のシステイン／シスチン類似体を含み、前記不均一性の減少が、産生プロセスの終了時に組換えタンパク質の力価を実質的に減少させることなく得られ、前記不均一性の減少が、
ａ．色若しくは色の強度；
ｂ．電荷不均一性であって、好ましくは酸性ピーク基種（ＡＰＧ）及び／又は塩基性ピーク基種（ＢＰＧ）を減少させることにより、それによって主要電荷種は低下しない電荷不均一性；並びに／或いは
ｃ．アミノ酸酸化、好ましくはメチオニン酸化
を減少させることを含む、上記方法。
【請求項２】
システイン／シスチン類似体が、式１及び式２によって表される化合物から選択される１つ又は複数の化合物並びにその塩を含み又はそれからなり：

【化１】





1　　2

式中、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ４及びＲ５が、水素、アミノカルボニル、Ｃ$_{2\sim22}$アシル、基がヒドロキシ及びＣ$_{1\sim22}$アルコキシから選択される１つ若しくは２つの置換基によって任意選択で置換されるＣ$_{1\sim22}$アルキル；Ｃ$_{1\sim22}$ヘテロアルキル、ヒドロキシスルホニル、Ｃ$_{1\sim22}$アルキルスルホニル、又はＣ$_{5\sim22}$アリールスルホニルを独立して表し；
Ｒ３及びＲ６が、ヒドロキシ；ＮＨ$_2$；Ｃ$_{1\sim22}$アルキルの１つ又は複数の炭素が、アリール若しくはヘテロアリールによって任意選択で置換されてもよいＣ$_{1\sim22}$アルコキシ；基がヒドロキシ若しくはＣ$_{1\sim22}$アルキルによって任意選択で置換されるＣ$_{1\sim22}$アルキルアミノ；ヒドロキシアミノ；Ｃ$_{1\sim22}$アルコキシアミノ；Ｃ$_{1\sim22}$アルキルの１つ又は複数の炭素が、アリール若しくはヘテロアリールで置換されるＣ$_{1\sim22}$アルキルアミノ；Ｃ$_{1\sim22}$ヘテロアルキルアミノ；ヒドロキシによって任意選択で置換されるジ（Ｃ$_{1\sim22}$アルキル）アミノ；Ｃ$_{1\sim22}$アルキルの１つ又は複数の炭素が、アリール若しくはヘテロアリールによって置換されるジ（Ｃ$_{1\sim22}$アルキル）アミノ；又はジ（Ｃ$_{1\sim22}$ヘテロアルキル）アミノを独立して表し、；
Ｒ７が、水素、リン酸又は硫酸を表し；
Ｌが、任意選択で置換されたＣ$_{1\sim10}$アルキレン鎖を表し、
ただし前記化合物が、システイン又はシスチンでない、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
システイン／シスチン類似体が、Ｎ，Ｎ’－ジアセチル－Ｌ－シスチン－ジメチルエステル、Ｎ－アセチル－Ｌ－システイン及びＮ，Ｎ’－ジアセチル－Ｌ－シスチン又はＳ－スルホシステインからなる群から選択される、請求項１又は２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４】
システイン／シスチン類似体が、Ｎ，Ｎ’－ジアセチル－Ｌ－シスチン－ジメチルエステル、Ｎ－アセチル－Ｌ－システイン及びＮ，Ｎ’－ジアセチル－Ｌ－シスチンからなる群から選択される、請求項１から３までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
前記細胞培養培地が、
（ａ）システイン／シスチン類似体；並びに
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を含み、（ａ）と（ｂ）のモル比が１：１８～１８：１である、請求項１から４までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
（ｉ）基本培地に前記宿主細胞を接種する工程であって、前記基本培地が、初期量の
（ａ）システイン／シスチン類似体；並びに／或いは
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を任意選択で含む工程と、
（ｉｉ）産生段階の間中培養を進行させる工程であって、組換えタンパク質が細胞によって産生され、前記産生段階の間に細胞培養培地に

（ａ）システイン／シスチン類似体；並びに／或いは
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を補充する工程と
を含み、（ａ）及び（ｂ）が、同時に又は連続して添加されてもよく、
基本培地の内容物及び添加される全補充物を合計した場合に（ａ）と（ｂ）のモル比が１：１８～１８：１である、請求項１から５までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項７】
前記（ａ）と（ｂ）のモル比が、１：１５～１５：１、例えば、１：１０～１０：１など１：１２～１２：１、例えば１：６～６：１など１：８～８：１、例えば１：３～３：１など１：４～４：１、例えば１．５：１～１：１．５など１：２～２：１である、請求項５又は６に記載の方法。
【請求項８】
前記細胞培養培地が、
（ａ）システイン／シスチン類似体；並びに
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を含み、（ａ）のモル量が、（ａ）及び（ｂ）の全モル量に照らして１０～９０パーセントであり、システイン類似体が使用される場合、（ｂ）のモル量が、システイン当量に照らして算出され；
シスチン類似体が使用される場合、（ｂ）のモル量が、シスチン当量に照らして算出される、請求項１から７までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項９】
（ｉ）基本培地に前記宿主細胞を接種する工程であって、前記基本培地が、初期量の
（ａ）システイン／シスチン類似体；並びに／或いは
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を任意選択で含む工程と、
（ｉｉ）産生段階の間中培養を進行させる工程であって、組換えタンパク質が細胞によって産生され、前記産生段階の間に細胞培養培地を
（ａ）システイン／シスチン類似体；並びに／或いは
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
で補充する工程と
を含み、（ａ）及び（ｂ）が、同時に又は連続して添加されてもよく、
基本培地の内容物及び添加される全補充物を合計した場合に、（ａ）のモル量が、（ａ）及び（ｂ）の全モル量に照らして１０～９０パーセントであり、システイン類似体が使用される場合、（ｂ）のモル量が、システイン当量に照らして算出され；
シスチン類似体が使用される場合、（ｂ）のモル量が、シスチン当量に照らして算出される、請求項１から８までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記基本培地中の（ｂ）の濃度が、０．１～１ｍｍｏｌ／Ｌ、例えば０．２～０．６ｍｍｏｌ／Ｌなど、システイン０．０５～５ｍｍｏｌ／Ｌと等しい、請求項６から９までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１】
産生段階の間に培地が（ａ）システイン／シスチン類似体並びに（ｂ）システイン及び／又はシスチンを補充され、産生段階全体にわたって培養物に添加される（ａ）及び（ｂ）の合計が、２～２０ｍｍｏｌ／Ｌなど、システイン１～７５ｍｍｏｌ／Ｌと等しい、請求項６から１０までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
前記産生段階の間に培地が（ａ）システイン／シスチン類似体並びに（ｂ）システイン及び／又はシスチンを毎日補充され、毎日の添加により、（ａ）＋（ｂ）の前記濃度が、０．１～１ｍｍｏｌ／Ｌなど、システイン０．０５～５ｍｍｏｌ／Ｌと等しい濃度になる、請求項６から１０までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項１３】
宿主細胞が、哺乳動物細胞、好ましくはＣＨＯ細胞である、請求項１から１２までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
組換えタンパク質が、抗体又はその抗原結合断片である、請求項１から１３までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項１５】
抗体又はその抗原結合断片が、
ｉ）ａ．配列番号１で定義される配列を有するＣＤＲ－Ｈ１；配列番号２で定義される配列を有するＣＤＲ－Ｈ２；配列番号３で定義される配列を有するＣＤＲ－Ｈ３；配列番号４で定義される配列を有するＣＤＲ－Ｌ１；配列番号５で定義される配列を有するＣＤＲ－Ｌ２及び配列番号６で定義される配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含む；又は
ｂ．配列番号７で定義される配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号８で定義される配列を有する重鎖可変領域を含む；又は
ｃ．配列番号７で定義される配列に対して少なくとも８０％の同一性若しくは類似性、好ましくは９０％の同一性若しくは類似性を有する軽鎖可変領域及び配列番号８で定義される配列に対して少なくとも８０％の同一性若しくは類似性、好ましくは９０％の同一性若しくは類似性を有する重鎖可変領域を含む；又は
ｄ．配列番号７で定義される配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号１１で定義される配列を有する重鎖を含む；又は
ｅ．配列番号７で定義される配列に対して少なくとも８０％の同一性若しくは類似性、好ましくは９０％の同一性若しくは類似性を有する軽鎖可変領域及び配列番号１１で定義される配列に対して少なくとも８０％の同一性若しくは類似性、好ましくは９０％の同一性若しくは類似性を有する重鎖を含む
抗体又はその抗原結合断片；或いは
ｉｉ）配列番号９で定義される配列を有する軽鎖及び配列番号１０で定義される配列を有する重鎖を含む抗体；或いは
ｉｉｉ）配列番号９で定義される配列に対して少なくとも８０％の同一性又は類似性、好ましくは９０％の同一性又は類似性を有する軽鎖及び配列番号１０で定義される配列に対して少なくとも８０％の同一性又は類似性、好ましくは９０％の同一性又は類似性を有する重鎖を含む抗体
である、請求項１から１４までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項１６】
組換えタンパク質が、システイン／シスチン類似体を含まない細胞培養培地中で成長した宿主細胞によって産生される場合、５０ｍｇ／ｍＬ以上など、１０ｍｇ／ｍＬ以上の濃度で無色でないタンパク質である、請求項１から１５までのいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
（ｉ）基本培地に前記宿主細胞を接種する工程であって、前記基本培地が、初期量の
（ａ）請求項２から４までのいずれか一項に規定されるシステイン／シスチン類似体；並びに／或いは
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を任意選択で含む工程と、
（ｉｉ）産生段階の間中培養を進行させる工程であって、組換えタンパク質が細胞によって産生され、前記産生段階の間に前記細胞培養培地に
（ａ）システイン／シスチン類似体；並びに／或いは
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を補充する工程と
を含み、（ａ）及び（ｂ）が、同時に又は連続して添加されてもよく、
基本培地の内容物及び添加される全補充物を合計した場合に（ａ）と（ｂ）のモル比が１：１８～１８：１である、組換えタンパク質調製物を産生する方法。

【請求項１８】
（ｉ）基本培地に前記宿主細胞を接種する工程であって、前記基本培地が、初期量の
（ａ）請求項２から４までのいずれか一項に規定されるシステイン／シスチン類似体；並びに／或いは
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を任意選択で含む工程と、
（ｉｉ）産生段階の間中培養を進行させる工程であって、組換えタンパク質が細胞によって産生され、前記産生段階の間に細胞培養培地に
（ａ）システイン／シスチン類似体；並びに／或るいは
（ｂ）システイン及び／又はシスチン
を補充する工程と
を含み、（ａ）及び（ｂ）が、同時に又は連続して添加されてもよく、
基本培地の内容物及び添加される全補充物を合計した場合に、（ａ）のモル量が、（ａ）及び（ｂ）の全モル量に照らして１０～９０パーセントであり、システイン類似体が使用される場合、（ｂ）のモル量が、システイン当量に照らして算出され；
シスチン類似体が使用される場合、（ｂ）のモル量が、シスチン当量に照らして算出される、組換えタンパク質調製物を産生する方法。
【請求項１９】
請求項１から１８までのいずれか一項に記載の方法によって得られうる又は得られた組換えタンパク質調製物。
【請求項２０】
Ｎ，Ｎ’－ジアセチル－Ｌ－シスチン－ジメチルエステルを含む、哺乳動物細胞を培養するのに適した細胞培養培地。