

【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1年9月26日(2019.9.26)

【公表番号】特表2018-533355(P2018-533355A)

【公表日】平成30年11月15日(2018.11.15)

【年通号数】公開・登録公報2018-044

【出願番号】特願2018-509536(P2018-509536)

【国際特許分類】

C 1 2 N	9/90	(2006.01)
C 0 7 K	16/12	(2006.01)
C 0 7 K	16/46	(2006.01)
C 0 7 K	16/24	(2006.01)
A 6 1 K	47/68	(2017.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	15/13	(2006.01)
C 1 2 N	15/61	(2006.01)
C 1 2 N	15/62	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	9/90	Z N A
C 0 7 K	16/12	
C 0 7 K	16/46	
C 0 7 K	16/24	
A 6 1 K	47/68	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	39/395	C
A 6 1 K	39/395	L
G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/53	N
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/61	
C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 P	21/08	

【手続補正書】

【提出日】令和1年8月19日(2019.8.19)

【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】**

ポリペプチド及び1つ以上の不純物を含む組成物からのポリペプチドの精製方法であって、方法が、

- a ) 組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を產生することと、
- b ) 親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成することと、
- c ) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成することと、
- d ) 陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、ポリペプチドを含む画分を収集することと、
- e ) 疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、ポリペプチドを含む画分を収集することと、を含み、  
組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

**【請求項 2】**

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの多重特異性抗体の精製方法であって、多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、V H / V L 単位を含み、方法が、逐次的に、

- a ) 組成物をタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、タンパク質A溶出物を產生するステップと、
- b ) タンパク質A溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、
- c ) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、
- d ) 陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、
- e ) 疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、  
組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

**【請求項 3】**

多重特異性抗体の精製方法であって、多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、V H / V L 単位を含み、多重特異性抗体の各アームが、別個に產生され、方法が、逐次的に、

- a ) 多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を產生するステップと、
- b ) 多重特異性抗体を含む組成物を產生するのに十分な条件下で、多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、
- c ) 多重特異性抗体を含む組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、
- d ) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、
- e ) 陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、
- f ) 疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、  
組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

**【請求項 4】**

混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、請求項 1 ~ 3のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 5】**

多重特異性抗体の精製方法であって、多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アーム

ムが、V H / V L 単位を含み、方法が、逐次的に、

a ) 組成物をタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、タンパク質A溶出物を產生するステップと、

b ) タンパク質A溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c ) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d ) 陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーに供し、多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

#### 【請求項6】

多重特異性抗体の精製方法であって、多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、V H / V L 単位を含み、多重特異性抗体の各アームが、別個に產生され、方法が、逐次的に、

a ) 多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を產生するステップと、

b ) 多重特異性抗体を含む組成物を產生するのに十分な条件下で、多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c ) 多重特異性抗体を含む組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d ) 混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

e ) 陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーに供し、多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、方法。

#### 【請求項7】

混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

#### 【請求項8】

親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、請求項7に記載の方法。

#### 【請求項9】

タンパク質Aクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、請求項2～8のいずれか一項に記載の方法。

#### 【請求項10】

混合モードクロマトグラフィー、及び／または陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、請求項1～6及び9のいずれか一項に記載の方法。

#### 【請求項11】

ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、請求項5または6に記載の方法。

#### 【請求項12】

ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含むヒドロキシアパタイト相互作用クロマトグラフィー画分を限外濾過に供するステップを更に含む、請求項5または6に記載の方法。

#### 【請求項13】

ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む陽イオン交換画分を限外濾過に供するステップを更に含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

#### 【請求項14】

ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含むヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー画分を限外濾過に供するステップを更に含む、請求項5、6、及び11のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 15】**

限外濾過が、第1の限外濾過、透析濾過、及び第2の限外濾過を逐次的に含む、請求項12～14のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 16】**

タンパク質Aクロマトグラフィーが、アガロースに結合しているタンパク質Aを含む、請求項2～15のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 17】**

タンパク質Aクロマトグラフィーが、M A b S e l e c t (商標)、M A b S e l e c t (商標) S u R e 、及びM A b S e l e c t (商標) S u R e L X、P r o s e p - V A 、P r o s e p - V A U l t r a P l u s 、P r o t e i n A S e p h a r o s e (登録商標) f a s t f l o w 、またはT y o p e a r l P r o t e i n A クロマトグラフィーである、請求項16に記載の方法。

**【請求項 18】**

混合モードクロマトグラフィーが、四級アミン及び疎水性部分、四級アミン及び高架橋アガロースに結合している疎水性部分、またはN-ベンジル-n-メチルエタノールアミンを含む、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 19】**

混合モードクロマトグラフィーが、C a p t o (商標) a d h e r e クロマトグラフィーである、請求項18に記載の方法。

**【請求項 20】**

疎水性相互作用クロマトグラフィー(H I C)が、疎水性部分を含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 21】**

疎水性相互作用クロマトグラフィーが、フェニル部分、フェニル部分架橋アガロース、または架橋アガロースに結合しているブチル部分を含む、請求項20に記載の方法。

**【請求項 22】**

疎水性相互作用クロマトグラフィーが、p h e n y l S e p h a r o s e (登録商標)クロマトグラフィーまたはB u t y l S e p h a r o s e (登録商標)クロマトグラフィーである、請求項20に記載の方法。

**【請求項 23】**

疎水性相互作用クロマトグラフィーが、ヘキシル部分、ヒドロキシル化メタクリルポリマーに結合している疎水性部分、またはヒドロキシル化メタクリルポリマーに結合しているヘキシル部分を含む、請求項20～22のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 24】**

疎水性相互作用クロマトグラフィーが、T O Y O P E A R L (登録商標) H e x y l 6 5 0 C である、請求項20～22のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 25】**

ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーである、請求項5、6、11、及び15のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 26】**

ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、C H T I型セラミックヒドロキシアパタイト(h y d r o x y a p a p t i t e)クロマトグラフィーである、請求項25に記載の方法。

**【請求項 27】**

陽イオン交換クロマトグラフィーが、カルボン酸部分、スルホン酸部分、カルボン酸部分架橋アガロース、または架橋アガロースに結合しているスルホン酸部分を含む、請求項1～24のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 28】**

陽イオン交換材料が、P O R O S (登録商標) H S 5 0 、P O R O S (登録商標) H S 2 0 、S O 3 M o n o l i t h 、S C e r a m i c H y p e r D 、スルホプロピル

- Sepharose (登録商標) Fast Flow (SPSFF)、SP-Sepharose (登録商標) XL (SPXL)、CM Sepharose (登録商標) Fast Flow、Capto (商標) S、Fractogel Se Hicap、Fractogel SO3、またはFractogel COOである、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

ポリペプチドまたは多重特異性抗体、または多重特異性抗体のアームが、細胞内で產生される、請求項1～28のいずれか一項に記載の方法。

【請求項30】

細胞が、原核生物細胞である、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

原核生物細胞が、E.coli細胞である、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

細胞が、1つ以上のシャペロンを発現するように操作される、請求項30に記載の方法。

【請求項33】

シャペロンが、FkpA、DsbA、またはDsbCのうちの1つ以上である、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

多重特異性抗体が、二重特異性抗体である、請求項1～33のいずれか一項に記載の方法。

【請求項35】

多重特異性抗体の第1のアームが、IL13に結合する、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

IL13が、ヒトIL13である、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

IL13が、配列番号1または配列番号2のアミノ酸配列を含む、請求項35または36に記載の方法。

【請求項38】

(a) 多重特異性抗体の第1のアームが、配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号9のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号10のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、

(b) 多重特異性抗体の第1のアームが、配列番号13のアミノ酸配列を含むVH配列、及び配列番号14のアミノ酸配列を含むVL配列を含む、または

(c) 多重特異性抗体の第1のアームが、配列番号15、16、または17のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項35～37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項39】

抗体の第2のアームが、IL17に結合する、請求項34～38のいずれか一項に記載の方法。

【請求項40】

IL17が、ヒトIL17である、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

IL17が、配列番号3、配列番号4、配列番号5、または配列番号6のアミノ酸配列を含む、請求項39または40に記載の方法。

【請求項42】

a) 多重特異性抗体の第2のアームが、配列番号18のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号19のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号20のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号21のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号22のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含

む、

b ) 多重特異性抗体の第 2 のアームが、配列番号 2 5 のアミノ段配列を含む V H 配列、及び配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、または

c ) 多重特異性抗体の第 2 のアームが、配列番号 2 7 、 2 8 、または 2 9 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 3 】

請求項 1 ~ 4 2 のいずれか一項に記載の方法によって精製されたポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む、組成物であって、約 5 % 、 4 % 、 3 % 、 2 % 、または 1 % 以下の産物特異的不純物を含む、組成物。

【手続補正 2 】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 5 7 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 5 7 7 】

その後、 pH 5 . 5 に調整した Q S F F 溶出物を、貫流モードで P h e n y l S e p h a r o s e ( 登録商標 ) H S クロマトグラフィーに供した。貫流 P h e n y l S e p h a r o s e ( 登録商標 ) 6 F a s t F l o w ( 高置換 ) H I C 条件は、以下の通りであった。カラムを 1 7 0 m M の酢酸塩 ( pH 5 . 5 ) で平衡化した。調整した Q S F F 溶出物プールをカラムに装填した。二重特異性抗体を貫流させ、その後、カラムを平衡化緩衝液で洗浄した。産物プール収集を開始し、 2 8 0 n m での吸光度に基づいて終結させた。その後、 P h e n y l S e p h a r o s e ( 登録商標 ) プールを濃縮し、限外濾過 / 透析濾過 ( U F / D F ) を使用して緩衝液交換した。非対合半抗体、ホモ二量体、低分子量種 ( L M W S ) 、高分子量種 ( H M W S ) 、超高分子量種 ( v H M W S ) 、酸性変異形、塩基性変異形、 F k p A 、 D s b A 、 D s b C 、 E C P 、浸出タンパク質 A 、 E . c o l i D N A 、及び内毒素を含む不純物の存在について、抗 A / 抗 B 二重特異性抗体を分析した。産物品質及び ( 収率 % によって示される ) プロセス性能を表 3 5 に詳述する。

表 3 5 。抗 A / 抗 B 産物品質及びプロセス性能

	$\alpha$ A MSS	$\alpha$ B MSS	組み立て	Capto (商標) Adhere	QSF F	Phenyl Sepha rose (登録商 標)	UFD F
収率 (%)	77	75	85	77	85	84	80
ECP (ppm)	118 17	109 96	344 7	94	44	26	16
Fkp A (ppm)	333 1	275 1	184 1	1265	216	8	8
Dsb A (ppm)	59	29	28	5	1	1	0.3
Dsb C (ppm)	94	144	122	4	9	2	0.1
SEC -合計 HMW S (%)	4.2	12.0	14.4	7.4	1.4	0.2	0.7
SEC -主要 (%)	18.1	29.4	85.1	92.6	98.5	99.8	99.3
SEC -LM WS (%)	77.3	58.5	0.5	0	0.09	0	0
純度、 NR - CE - SDS (%)	83.5	71.1	86.9	92.6	96.4	97	97

## 配列

別途表記されない限り、アミノ酸配列はN末端からC末端で提示され、核酸配列は5'から3'で提示される。

E. coli FkpA

アミノ酸配列 - リーダー配列なし

A F A D K S K L S D Q E I E Q T L Q A F E A R V K S S A Q A K M E K D A A D N E

A K G K E Y R E K F A K E K G V K T S S T G L V Y Q V V E A G K G E A P K D S D  
 T V V V N Y K G T L I D G K E F D N S Y T R G E P L S F R L D G V I P G W T E G  
 L K N I K K G G K I K L V I P P E L A Y G K A G V P G I P P N S T L V F D V E L  
 L D V K P A P K A D A K P E A D A K A A D S A K K

(配列番号1)

アミノ酸配列 - 全配列

M K S L F K V T L L A T T M A V A L H A P I T F A A E A A K P A T T A D S K A A  
 F K N D D Q K S A Y A L G A S L G R Y M E N S L K E Q E K L G I K L D K D Q L I  
 A G V Q D A F A D K S K L S D Q E I E Q T L Q A F E A R V K S S A Q A K M E K D  
 A A D N E A K G K E Y R E K F A K E K G V K T S S T G L V Y Q V V E A G K G E A  
 P K D S D T V V V N Y K G T L I D G K E F D N S Y T R G E P L S F R L D G V I P  
 G W T E G L K N I K K G G K I K L V I P P E L A Y G K A G V P G I P P N S T X V  
 F D V E L L D V K P A P K A D A K P E A D A K A A D S A K K

(配列番号2)

核酸配列

a t g a a a a t c a c t g t t a a a g t a a c g c t g c t g g c g a c c a c a a  
 t g g c c g t t g c c c t g c a t g c a c c a a t c a c t t t g c t g c t g a  
 a g c t g c a a a a c c t g c t a c a g c t g c t g a c a g c a a a g c a g c g  
 t t c a a a a a t g a c g a t c a g a a a t c a g c t t a t g c a c t g g g t g  
 c c t c g c t g g g t c g t t a c a t g g a a a a c t c t c t a a a a g a a c a  
 a g a a a a a a c t g g g c a t c a a a c t g g a t a a a g a t c a g c t g a t c  
 g c t g g t g t t c a g g a t g c a t t t g c t g a t a a g a g c a a a c t c t  
 c c g a c c a a g a g a t c g a a c a g a c t c t a c a a g c a t t c g a a g c  
 t c g c g t g a a g t c t t c t g c t c a g g c g a a g a t g g a a a a a g a c  
 g c g g c t g a t a a c g a a g c a a a a g g t a a a a g a g t a c c g c g a g a  
 a a t t t g c c a a a g a g a a a g g t g t g a a a a a c c t c t c a a c t g g  
 t c t g g t t t a t c a g g t a g t a g a a g c c g g t a a a a g g c g a a g c a  
 c c g a a a a g a c a g c g a t a c t g t t g t a g t g a a c t a c a a a g g t a  
 c g c t g a t c g a c g g t a a a g a g t t c g a c a a c t c t a c a c c c g  
 t g g t g a a c c g c t t t c t t c c g t c t g g a c g g t g t t a t c c c g  
 g g t t g g a c a g a a g g t c t g a a g a a c a t c a a g a a a a g g c g g t a  
 a g a t c a a a c t g g t t a t t c c a c c a g a a c t g g c t t a c g g c a a  
 a g c g g g t g t t c c g g g a t c c c a c c g a a t t c t a c c c t g g t g  
 t t t g a c g t a g a g c t g c t g g a t g t g a a a a c c a g c g c c g a a g g  
 c t g a t g c a a a a g c c g g a a g c t g a t g c g a a a g c c g c a g a t t c  
 t g c t a a a a a a t a a a

(配列番号3)

<本発明の更なる実施態様>

[実施態様1]

F k p A ポリペプチドを含む細胞溶解物からの前記F k p A ポリペプチドの精製方法であって、

- a) 遠心分離により前記細胞溶解物を浄化することと、
- b) 前記F k p A ポリペプチドを含む前記浄化された細胞溶解物を陽イオン交換クロマトグラフィー材料に適用することと、
- c) 前記陽イオン交換クロマトグラフィー材料から前記F k p A ポリペプチドを溶出させて、前記F k p A ポリペプチドを含む陽イオン交換溶出物を生成することと、
- d) 前記F k p A ポリペプチドを含む前記陽イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィー(H I C)材料に適用することと、
- e) 前記H I C材料から前記F k p A ポリペプチドを溶出させて、H I C溶出物を生成することと、

f) 前記 F k p A ポリペプチドを含む前記 H I C 溶出物をサイズ排除クロマトグラフィーに適用することと、

g) 前記サイズ排除クロマトグラフィーから前記 F k p A ポリペプチドを溶出させることと、を含む、前記方法。

[実施態様 2]

前記 F k p A ポリペプチドを含む前記溶解物が、約 pH 6.0 である、実施態様 1 に記載の方法。

[実施態様 3]

前記陽イオン交換クロマトグラフィー材料が、強陽イオン交換体である、実施態様 1 または 2 に記載の方法。

[実施態様 4]

前記強陽イオン交換体が、スルホプロピル基を含む、実施態様 3 に記載の方法。

[実施態様 5]

前記スルホプロピル基が、架橋アガロースに結合している、実施態様 4 に記載の方法。

[実施態様 6]

前記陽イオン交換材料が、溶出前に 25 mM の 2-(N-モルフィリノ(morpholinino))エタンスルホン酸(MES) 中で洗浄される、実施態様 1 ~ 5 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 7]

前記 F k p A が、塩勾配を使用して前記陽イオンクロマトグラフィー材料から溶出される、実施態様 1 ~ 6 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 8]

前記塩勾配が、線形勾配である、実施態様 7 に記載の方法。

[実施態様 9]

前記塩勾配が、9 カラム体積にわたって、25 mM の MES、300 mM の NaCl から 25 mM の MES、300 mM の NaCl までの 0 ~ 30 % の勾配である、実施態様 8 に記載の方法。

[実施態様 10]

前記陽イオン交換溶出物が、画分で収集される、実施態様 1 ~ 9 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 11]

前記画分が、疎水性相互作用クロマトグラフィー前にサイズ排除クロマトグラフィーによって分析される、実施態様 10 に記載の方法。

[実施態様 12]

少なくとも約 25 % の F k p A を含む画分が、更なる精製のために選択される、実施態様 11 に記載の方法。

[実施態様 13]

前記 H I C 材料が、ブチル部分を含む、実施態様 1 ~ 12 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 14]

前記ブチル部分が、架橋アガロースに結合している、実施態様 13 に記載の方法。

[実施態様 15]

前記陽イオン交換溶出物が、H I C 前に約 0.6 M の硫酸ナトリウム及び約 50 mM の PO<sub>4</sub>(約 pH 7) を含有するように調整される、実施態様 1 ~ 14 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 16]

前記 F k p A 結合 H I C 材料が、溶出前に 40 mM のリン酸塩、300 mM の硫酸ナトリウム(pH 7.0) で洗浄される、実施態様 1 ~ 15 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 17]

前記 F k p A が、水を使用して前記 H I C 材料から溶出される、実施態様 1 ~ 16 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 18]

前記 H I C 溶出物が、画分で収集される、実施態様 1 ~ 1 6 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 19]

F k p A を含む画分が、プールされる、実施態様 1 8 に記載の方法。

[実施態様 20]

少なくとも約 2 5 % の F k p A を含む画分が、プールされる、実施態様 1 9 に記載の方法。

[実施態様 21]

前記サイズ排除クロマトグラフィー材料が、架橋アガロースとデキストランとの球状複合体を含む、実施態様 1 ~ 2 0 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 22]

前記サイズ排除貫流物が、画分で収集される、実施態様 1 ~ 2 1 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 23]

前記 H I C 溶出物が、サイズ排除クロマトグラフィー前に濃縮される、実施態様 1 ~ 2 2 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 24]

前記 H I C 溶出物が、サイズ排除クロマトグラフィー前に約 6 倍 ~ 約 1 0 倍に濃縮される、実施態様 2 3 に記載の方法。

[実施態様 25]

F k p A を含むサイズ排除画分が、プールされる、実施態様 2 2 ~ 2 4 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 26]

前記 F k p A ポリペプチドが、E s c h e r i c h i a c o l i F k p A ポリペプチドである、実施態様 1 ~ 2 5 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 27]

前記 F k p A ポリペプチドが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、実施態様 2 6 に記載の方法。

[実施態様 28]

前記 F k p A ポリペプチドのアミノ酸配列が、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも約 8 0 % の同一性を含む、実施態様 2 7 に記載の方法。

[実施態様 29]

前記 F k p A が、細胞で発現される、実施態様 1 ~ 2 8 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 30]

前記細胞が、原核生物細胞である、実施態様 2 9 に記載の方法。

[実施態様 31]

前記細胞が、E . c o l i 細胞である、実施態様 2 9 または 3 0 に記載の方法。

[実施態様 32]

前記細胞が、F k p A の内因性発現を超えるレベルで F k p A を発現するように操作される、実施態様 2 9 ~ 3 1 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 33]

前記細胞が、微小流動化剤を使用して溶解される、実施態様 1 ~ 3 2 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 34]

実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって精製された F k p A ポリペプチドを含む組成物。

[実施態様 35]

精製された F k p A ポリペプチドを含む組成物であって、少なくとも約 9 8 % の単量体 F k p A ポリペプチドを含む、前記組成物。

[実施態様 3 6]

前記組成物が、約 2 % 未満の低分子量種を含む、実施態様 3 5 に記載の組成物。

[実施態様 3 7]

前記組成物が、約 5 % 以下の高分子量種を含む、実施態様 3 5 または 3 6 に記載の組成物。

[実施態様 3 8]

単量体 F k p A ポリペプチドの割合が、サイズ排除クロマトグラフィーによって検出される、実施態様 3 5 ~ 3 7 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 3 9]

前記組成物が、約 5 %、約 4 %、約 3 %、約 2 %、または約 1 % 未満の不純物を含む、実施態様 3 8 に記載の組成物。

[実施態様 4 0]

前記不純物が、F k p A に対して高分子量及び / または低分子量のポリペプチド種である、実施態様 3 9 に記載の組成物。

[実施態様 4 1]

前記不純物が、E . c o l i タンパク質 ( E C P ) 、F k p A 凝集体、F k p A 断片、核酸、または細胞培養培地成分のうちの 1 つ以上である、実施態様 3 9 または 4 0 に記載の組成物。

[実施態様 4 2]

前記 F k p A が、1 回以上の凍結融解サイクルに対して安定している、実施態様 3 4 ~ 4 1 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 4 3]

前記 F k p A が、3 回の凍結融解サイクルに対して安定している、実施態様 4 2 に記載の組成物。

[実施態様 4 4]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの純度が、クロマトグラフィー、S D S ポリアクリルアミドゲル電気泳動、またはウエスタンプロット分析のうちの 1 つ以上によって測定される、実施態様 3 4 ~ 4 3 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 4 5]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの純度が、高性能液体クロマトグラフィー ( H P L C ) によって測定される、実施態様 3 4 ~ 4 4 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 4 6]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの純度が、サイズ排除クロマトグラフィー ( S E C ) によって測定される、実施態様 3 4 ~ 4 5 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 4 7]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの純度が、蛍光画像化または銀染色を使用して S D S ゲル電気泳動によって測定される、実施態様 3 4 ~ 4 4 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 4 8]

前記組成物中の非 F k p A ポリペプチドの存在が、ウエスタンプロット分析により示される抗 F k p A 抗体と免疫反応しないゲル電気泳動によって特定される種の存在によって特定される、実施態様 4 7 に記載の組成物。

[実施態様 4 9]

前記組成物中の前記 F k p A ポリペプチドの凝集体の存在が、ウエスタンプロット分析により、前記天然 F k p A を超える分子量を有する種の存在によって特定される、実施態様 4 8 に記載の組成物。

[実施態様 5 0]

F k p A に特異的に結合する抗体の生成方法であって、動物を、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって精製された F k p A を含む組成物に曝露または免疫化することを含む、前記方法。

[実施態様 5 1]

F k p A に特異的に結合する抗体の生成方法であって、動物を実施態様 3 4 ~ 4 9 のいずれか一に記載の組成物に曝露または免疫化することを含む、前記方法。

[実施態様 5 2]

前記動物から血清を収集することを更に含み、前記血清が F k p A に特異的に結合する抗体を含む、実施態様 5 0 または 5 1 に記載の方法。

[実施態様 5 3]

前記血清が、F k p A に特異的に結合するポリクローナル抗体を含む、実施態様 5 2 に記載の方法。

[実施態様 5 4]

1つ以上のモノクローナル抗体が、前記血清から単離される、実施態様 5 2 または 5 3 に記載の方法。

[実施態様 5 5]

前記動物が、ヤギ、ウサギ、マウス、モルモット、ハムスター、ラット、ロバ、またはニワトリである、実施態様 5 0 ~ 5 4 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 5 6]

F k p A に特異的に結合するポリクローナル抗体を含む組成物であって、前記ポリクローナル抗体が、動物を、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって精製された F k p A を含む組成物に免疫化することによって生成される、前記組成物。

[実施態様 5 7]

F k p A に特異的に結合するポリクローナル抗体を含む組成物であって、前記ポリクローナル抗体が、動物を、実施態様 3 4 ~ 4 9 のいずれか一に記載の組成物に免疫化することによって生成される、前記組成物。

[実施態様 5 8]

前記ポリクローナル抗体が、前記動物の血清から収集される、実施態様 5 6 または 5 7 に記載の組成物。

[実施態様 5 9]

F k p A に特異的に結合するモノクローナル抗体を含む組成物であって、前記モノクローナル抗体が、動物を、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって精製された F k p A を含む組成物に免疫化することによって生成される、前記組成物。

[実施態様 6 0]

F k p A に特異的に結合するモノクローナル抗体を含む組成物であって、前記モノクローナル抗体が、動物を、実施態様 3 4 ~ 4 9 のいずれか一に記載の組成物に免疫化することによって生成される、前記組成物。

[実施態様 6 1]

前記動物が、ヤギ、ウサギ、マウス、モルモット、ハムスター、ラット、ロバ、またはニワトリである、実施態様 5 6 ~ 6 0 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 6 2]

F k p A に特異的に結合する抗体の精製方法であって、抗 F k p A 抗体を含む、実施態様 5 6 ~ 6 1 のいずれか一に記載の組成物を、約 6 0 % の最終濃度の硫酸アンモニウムになるまで、硫酸アンモニウムと接触させることと、前記溶液を遠心分離することと、前記上清を除去することと、前記ペレットをリン酸緩衝液中に溶解することと、を含む、前記方法。

[実施態様 6 3]

前記リン酸緩衝液が、約 5 0 mM のリン酸ナトリウム（約 pH 7 . 0 ）を含む、実施態様 6 2 に記載の方法。

[実施態様 6 4]

F k p A に特異的に結合する抗体の精製方法であって、

a ) 抗 F k p A 抗体を含む、実施態様 5 6 ~ 6 1 のいずれか一に記載の組成物を、約 6 0 % の最終濃度の硫酸アンモニウムになるまで、硫酸アンモニウムと接触させることと、

前記溶液を遠心分離することと、前記上清を除去することと、前記ペレットをリン酸緩衝液中に溶解して、抗 F k p A 抗体溶液を生成することと、

b ) 前記抗 F k p A 抗体溶液を親和性クロマトグラフィー材料に適用することと、

c ) 前記親和性材料から前記抗体を溶出させて、前記抗 F k p A 抗体を含む親和性溶出物を生成することと、

d ) 前記硫酸アンモニウム上清をサイズ排除クロマトグラフィーに供することと、e ) 前記サイズ排除クロマトグラフィーから、前記精製された抗体を含む画分を収集することと、を含む、前記方法。

[実施態様 6 5 ]

前記リン酸緩衝液が、約 5 0 m M のリン酸ナトリウム（約 pH 7 . 0 ）を含む、実施態様 6 4 に記載の方法。

[実施態様 6 6 ]

前記親和性クロマトグラフィー材料が、クロマトグラフィー培地に結合している F k p A を含む、実施態様 6 4 または 6 5 に記載の方法。

[実施態様 6 7 ]

前記クロマトグラフィー培地が、架橋デキストランである、実施態様 6 6 に記載の方法。

[実施態様 6 8 ]

前記 F k p A が、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって精製される、実施態様 6 6 または 6 7 に記載の方法。

[実施態様 6 9 ]

前記 F k p A が、実施態様 3 4 ~ 4 9 のいずれか一に記載の組成物に由来する、実施態様 6 6 または 6 7 に記載の方法。

[実施態様 7 0 ]

前記 F k p A が、前記クロマトグラフィー培地に共有結合している、実施態様 6 6 ~ 6 9 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 7 1 ]

前記 F k p A が、グリセリル - 制御孔ガラスカラム（グリセリル - C P G ）を使用して前記クロマトグラフィー培地に結合している、実施態様 6 6 ~ 7 0 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 7 2 ]

前記抗 F k p A 抗体が、前記親和性カラムから溶出される、実施態様 6 4 ~ 7 1 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 7 3 ]

前記サイズ排除クロマトグラフィー材料が、架橋アガロースとデキストランとの球状複合体を含む、実施態様 6 4 ~ 7 2 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 7 4 ]

架橋アガロースとデキストランとの前記球状複合体が、1 0 , 0 0 0 ダルトン ~ 6 0 0 , 0 0 0 ダルトンの分子量を有する分子の分離範囲を有する、実施態様 7 3 に記載の方法。

[実施態様 7 5 ]

前記サイズ排除貫流物が、画分で収集される、実施態様 6 4 ~ 7 4 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 7 6 ]

抗 F k p A 抗体を含むサイズ排除画分が、プールされる、実施態様 7 5 に記載の方法。

[実施態様 7 7 ]

前記抗体が、ポリクローナル抗体である、実施態様 6 4 ~ 7 6 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 7 8 ]

前記抗体が、実施態様 5 0 ~ 5 5 のいずれか一に記載の方法に従って調製される、実施

態様 6 4 ~ 7 7 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 7 9]

前記抗体の約 1 % 未満が、非 F k p A 化合物に特異的に結合する、実施態様 6 4 ~ 7 8 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 8 0]

実施態様 6 2 ~ 7 9 のいずれか一に記載の方法によって精製された、単離された抗 F k p A 抗体。

[実施態様 8 1]

試料中の F k p A の定量化方法であって、検出システムを使用して前記試料中の F k p A を検出することと、前記試料中で検出された F k p A の量を 1 つ以上の濃度の超高純度 F k p A 参照標準物の検出と比較することと、を含む、前記方法。

[実施態様 8 2]

前記超高純度 F k p A 参照標準物が、少なくとも約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、または約 9 8 % の単量体 F k p A ポリペプチドを含む、実施態様 8 1 に記載の方法。

[実施態様 8 3]

前記超高純度 F k p A 参照標準物が実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって調製され、実施態様 3 4 ~ 4 9 のいずれか一に記載の F k p A 組成物を含む、実施態様 8 1 または 8 2 に記載の方法。

[実施態様 8 4]

前記検出システムが、免疫アッセイである、実施態様 8 1 ~ 8 3 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 8 5]

前記免疫アッセイが、超高純度 F k p A 参照標準物に特異的に結合する抗体を含む、実施態様 8 4 に記載の方法。

[実施態様 8 6]

F k p A の存在及び / または分量についての組換えポリペプチド試料の分析方法であって、免疫アッセイを使用して前記試料中の F k p A を検出することと、前記試料中で検出された F k p A の量を 1 つ以上の濃度の超高純度 F k p A 参照標準物の検出と比較することと、を含む、前記方法。

[実施態様 8 7]

前記超高純度 F k p A 参照標準物が、少なくとも約 9 8 % の単量体 F k p A ポリペプチドを含む、実施態様 8 6 に記載の方法。

[実施態様 8 8]

前記超高純度 F k p A 参照標準物が、実施態様 1 ~ 3 3 のいずれか一に記載の方法によって調製される、実施態様 8 6 または 8 7 に記載の方法。

[実施態様 8 9]

前記免疫アッセイが、超高純度 F k p A に特異的に結合する抗体を含む、実施態様 8 4 ~ 8 8 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 9 0]

前記超高純度 F k p A に特異的に結合する前記抗体が、ポリクローナル抗体である、実施態様 8 9 に記載の方法。

[実施態様 9 1]

前記超高純度 F k p A に特異的に結合する前記抗体が、前記免疫アッセイにおいて捕捉抗体として使用される、実施態様 8 9 または 9 0 に記載の方法。

[実施態様 9 2]

超高純度 F k p A に特異的に結合する前記抗体が、検出抗体として使用される、実施態様 8 9 ~ 9 1 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 9 3]

前記検出抗体が、検出剤にコンジュゲートされる、実施態様 9 2 に記載の方法。

[実施態様 9 4]

検出剤が、西洋ワサビペルオキシダーゼである、実施態様 89～93 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 95]

Fk pA に特異的に結合する前記抗体が、実施態様 56～61 のいずれか一に記載の組成物中に含まれるか、または実施態様 50～55 のいずれか一に記載の方法に従って調製される、実施態様 89～94 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 96]

前記 Fk pA が、E. coli Fk pA である、実施態様 81～95 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 97]

前記試料が、宿主細胞内で調製される組換えポリペプチドを含む、実施態様 81～96 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 98]

前記宿主細胞が、E. coli 細胞である、実施態様 97 に記載の方法。

[実施態様 99]

前記宿主細胞が、Fk pA を過剰発現する、実施態様 97 または 98 に記載の方法。

[実施態様 100]

前記試料が、細胞溶解物である、実施態様 81～99 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 101]

前記試料が、組換えポリペプチド調製物から得られ、前記組換えポリペプチド調製物が、1つ以上のクロマトグラフィー精製ステップに供されている、実施態様 81～100 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 102]

前記組換えポリペプチド調製物が、最終精製産物である、実施態様 101 に記載の方法。

[実施態様 103]

前記組換えポリペプチド試料中に含有される前記組換えポリペプチドが、抗体またはイムノアドヘシンである、実施態様 81～102 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 104]

前記抗体が、多重特異性抗体、二重特異性抗体、半抗体、または抗体断片である、実施態様 103 に記載の方法。

[実施態様 105]

前記組換えポリペプチドが、IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 である、実施態様 103 または 104 に記載の方法。

[実施態様 106]

試料中の Fk pA の検出のための免疫アッセイ方法であって、前記試料が、宿主細胞株に由来する組換えポリペプチド調製物から得られ、前記方法が、

(a) Fk pA に結合する捕捉抗体を前記試料と接触させて、それにより試料 - 捕捉抗体組み合わせ材料を生成すること、

(b) Fk pA に結合する検出抗体を前記試料 - 捕捉抗体組み合わせ材料と接触させること、

(c) 前記試料 - 捕捉抗体組み合わせ材料に結合している前記抗体を検出することと、を含む、前記方法。

[実施態様 107]

標準滴定曲線を使用して結合している前記検出抗体のレベルを定量化することを更に含む、実施態様 106 に記載の方法。

[実施態様 108]

結合している前記検出抗体のレベルに基づいて、前記試料中に存在する Fk pA の量を計算することを更に含む、実施態様 107 に記載の方法。

[実施態様 109]

前記試料中に存在する F k p A の前記量が、前記標準滴定曲線を超高純度 F k p A 組成物で生成された標準滴定曲線と比較することによって決定される、実施態様 108 に記載の方法。

[実施態様 110]

前記超高純度 F k p A 組成物が、少なくとも約 98% の単量体 F k p A ポリペプチドを含む、実施態様 109 に記載の方法。

[実施態様 111]

前記組成物中の前記超高純度 F k p A が、実施態様 1~33 のいずれか一に記載の方法によって調製される、実施態様 109 または 110 に記載の方法。

[実施態様 112]

前記捕捉抗体が、前記超高純度 F k p A に特異的に結合する、実施態様 106~111 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 113]

前記検出抗体が、前記超高純度 F k p A に特異的に結合する、実施態様 106~112 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 114]

前記超高純度 F k p A に特異的に結合する前記抗体が、ポリクローナル抗体である、実施態様 112 または 113 に記載の方法。

[実施態様 115]

F k p A に結合する前記第 2 の検出抗体が西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートされる、実施態様 106~114 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 116]

前記ポリクローナル抗体が、実施態様 50~55 のいずれか一に記載の方法に従って生成される、実施態様 106~115 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 117]

前記免疫アッセイが、サンドイッチアッセイである、実施態様 106~116 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 118]

前記サンドイッチアッセイが、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) である、実施態様 117 に記載の方法。

[実施態様 119]

前記 F k p A が、E. coli F k p A である、実施態様 106~118 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 120]

前記宿主細胞株に由来する前記組換えポリペプチド調製物が、E. coli から得られる、実施態様 106~119 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 121]

前記宿主細胞株が、外因性 F k p A を過剰発現する、実施態様 120 に記載の方法。

[実施態様 122]

前記試料が、細胞溶解物である、実施態様 106~121 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 123]

前記試料が、前記組換えポリペプチド調製物から得られ、前記組換えポリペプチド調製物が、1つ以上のクロマトグラフィー精製ステップに供されている、実施態様 106~122 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 124]

前記組換えポリペプチド調製物が、最終精製産物である、実施態様 123 に記載の方法。

[実施態様 125]

前記組換えポリペプチド調製物中に含有される前記組換えポリペプチドが、抗体またはイムノアドヘシンである、実施態様 106~124 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 126]

前記抗体が、多重特異性抗体、二重特異性抗体、半抗体、または抗体断片である、実施態様125に記載の方法。

[実施態様 127]

前記組換えポリペプチドが、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4である、実施態様125または126に記載の方法。

[実施態様 128]

前記組換えポリペプチドが、IL13に結合する第1の結合ドメイン、及びIL17に結合する第2の結合ドメインを含む二重特異性抗体である、実施態様125に記載の方法。

[実施態様 129]

前記IL13が、配列番号4または配列番号5のアミノ酸配列を含む、実施態様128に記載の方法。

[実施態様 130]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、実施態様128または129に記載の方法。

[実施態様 131]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号10のアミノ酸配列を含むVH配列、及び配列番号11のアミノ酸配列を含むVL配列を含む、実施態様128～130のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 132]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号18のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様128～131のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 133]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様128～132のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 134]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様128～133のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 135]

前記IL17が、ヒトIL17である、実施態様128～134のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 136]

第2の結合ドメインが、ヒトIL17AA、IL17FF、及びIL17AFに結合する、実施態様128～135のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 137]

前記IL17Aが、配列番号6または配列番号7のアミノ酸配列を含み、前記IL17Fが、配列番号8または配列番号9のアミノ酸配列を含む、実施態様128～136のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 138]

前記二重特異性抗体の前記第2の結合ドメインが、配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号25のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号28のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、実施態様128～137のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 139]

前記二重特異性抗体の前記第2の結合ドメインが、配列番号21のアミノ酸配列を含む

V H 配列、及び配列番号 22 のアミノ酸配列を含む V L 配列を含む、実施態様 128～138 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 140]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 128～139 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 141]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 128～140 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 142]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 128～141 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 143]

細菌細胞から調製された組換えポリペプチドを含む薬学的組成物の品質アッセイであつて、前記薬学的組成物の試料を実施態様 106～142 のいずれか一に記載の免疫アッセイ方法に供して、前記薬学的組成物中の F k p A の存在または量を検出することを含む、前記品質アッセイ。

[実施態様 144]

約 30 ppm、約 25 ppm、約 20 ppm、約 15 ppm、約 14 ppm、約 13 ppm、約 12 ppm、約 11 ppm、約 10 ppm、約 9 ppm、約 8 ppm、約 7 ppm、約 6 ppm、約 5 ppm、約 4 ppm、約 3 ppm、約 2 ppm、約 1 ppm、約 0.9 ppm、約 0.8 ppm、約 0.7 ppm、約 0.6 ppm、約 0.5 ppm、約 0.4 ppm、約 0.3 ppm、約 0.2 ppm、または約 0.1 ppm 以下の前記薬学的組成物中の F k p A の量である、実施態様 143 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 145]

前記細菌細胞が、E. coli 細胞である、実施態様 143 または 144 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 146]

前記細菌細胞が、外因性 F k p A を過剰発現する、実施態様 143～145 のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様 147]

前記試料が、細胞溶解物である、実施態様 143～146 のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様 148]

前記試料が、前記組換えポリペプチド調製物から得られ、前記組換えポリペプチド調製物が、1 つ以上のクロマトグラフィー精製ステップに供されている、実施態様 143～147 のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様 149]

前記組換えポリペプチド調製物が、最終精製産物である、実施態様 148 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 150]

前記組換えポリペプチドが、抗体またはイムノアドヘシンである、実施態様 143～149 のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様 151]

前記抗体が、多重特異性抗体、二重特異性抗体、半抗体、または抗体断片である、実施態様 150 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 152]

前記組換えポリペプチドが、IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 である、実施態様 151 に記載の品質アッセイ。

[実施態様 153]

前記組換えポリペプチドが、IL13 に結合する第 1 の結合ドメイン、及び IL17 に

結合する第2の結合ドメインを含む二重特異性抗体である、実施態様151に記載の品質アッセイ。

[実施態様154]

前記IL13が、配列番号4または配列番号5のアミノ酸配列を含む、実施態様153に記載の品質アッセイ。

[実施態様155]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号17のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、実施態様153または154に記載の品質アッセイ。

[実施態様156]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号10のアミノ酸配列を含むVH配列、及び配列番号11のアミノ酸配列を含むVL配列を含む、実施態様153～155のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様157]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号18のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様153～156のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様158]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様153～157のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様159]

前記二重特異性抗体の前記第1の結合ドメインが、配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様153～158のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様160]

前記IL17が、ヒトIL17である、実施態様153～159のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様161]

第2の結合ドメインが、ヒトIL17AA、IL17FF、及びIL17AFに結合する、実施態様153～159のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様162]

前記IL17Aが、配列番号6または配列番号7のアミノ酸配列を含み、前記IL17Fが、配列番号8または配列番号9のアミノ酸配列を含む、実施態様153～161のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様163]

前記二重特異性抗体の前記第2の結合ドメインが、配列番号23のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号24のアミノ酸配列を含むHVR-H2、配列番号25のアミノ酸配列を含むHVR-H3、配列番号26のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び配列番号28のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む、実施態様153～162のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様164]

前記二重特異性抗体の前記第2の結合ドメインが、配列番号21のアミノ酸配列を含むVH配列、及び配列番号22のアミノ酸配列を含むVL配列を含む、実施態様153～163のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様165]

前記二重特異性抗体の前記第2の結合ドメインが、配列番号29のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様153～164のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様166]

前記二重特異性抗体の前記第2の結合ドメインが、配列番号30のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様153～165のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様 167]

前記二重特異性抗体の前記第2の結合ドメインが、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様153～166のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様 168]

前記薬学的組成物中のDsbA及び/またはDsbCの量を検出するステップを更に含む、実施態様153～167のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様 169]

DsbAの量が、約5ppm、約4ppm、約3ppm、約2ppm、約1ppm、約0.9ppm、約0.8ppm、約0.7ppm、約0.6ppm、約0.5ppm、約0.4ppm、約0.3ppm、約0.2ppm、または約0.1ppm以下である、実施態様168に記載の品質アッセイ。

[実施態様 170]

DsbCの量が、約5ppm、約4ppm、約3ppm、約2ppm、約1ppm、約0.9ppm、約0.8ppm、約0.7ppm、約0.6ppm、約0.5ppm、約0.4ppm、約0.3ppm、約0.2ppm、または約0.1ppm以下である、実施態様168または169に記載の品質アッセイ。

[実施態様 171]

DsbA及び/またはDsbCの量が、免疫アッセイによって測定される、実施態様168～170のいずれか一に記載の品質アッセイ。

[実施態様 172]

細菌細胞から調製された組換えポリペプチドを含む薬学的組成物中のFkpAの検出のためのキットであって、実施態様50～55のいずれか一に記載の方法によって調製された抗FkpA抗体、または実施態様56～61のいずれか一に記載の抗FkpA抗体の組成物を含む、前記キット。

[実施態様 173]

前記キットが、試料中のFkpAを定量するための標準曲線を生成する際の参照標準物として使用するための、かつ/または陽性対照として使用するための超高純度FkpAを更に含む、実施態様172に記載のキット。

[実施態様 174]

前記超高純度FkpAが、実施態様1～33のいずれか一に記載の方法に従って調製される、実施態様172に記載のキット。

[実施態様 175]

組換えポリペプチドを含む組成物であって、前記組換えポリペプチドが、内因性FkpAを発現する宿主細胞内で產生され、前記組成物が、約6ppm、約5ppm、約4ppm、約3ppm、約2ppm、約1ppm、約0.9ppm、約0.8ppm、約0.7ppm、約0.6ppm、約0.5ppm、約0.4ppm、約0.3ppm、約0.2ppm、または約0.1ppm以下の濃度のFkpAを含む、前記組成物。

[実施態様 176]

前記組成物中のFkpAの量が、免疫アッセイによって決定される、実施態様175に記載の組成物。

[実施態様 177]

前記組成物中のFkpAの量が、実施態様106～124のいずれか一に記載の免疫アッセイによって決定される、実施態様175に記載の組成物。

[実施態様 178]

組換えポリペプチドを含む組成物であって、前記組換えポリペプチドが、外因性FkpAを発現するように操作されている宿主細胞内で產生され、前記組成物が、約15ppm、約14ppm、約13ppm、約12ppm、約11ppm、約10ppm、約9ppm、約8ppm、約7ppm、約6ppm、約5ppm、約4ppm、約3ppm、約2ppm、約1ppm、約0.9ppm、約0.8ppm、約0.7ppm、約0.6ppm、約0.5ppm、約0.4ppm、約0.3ppm、約0.2ppm、または約0.

1 ppm 以下の濃度の Fkpa を含む、前記組成物。

[実施態様 179]

前記組換えポリペプチドが、抗体である、実施態様 175～178 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 180]

前記抗体が、二重特異性抗体である、実施態様 179 に記載の抗体。

[実施態様 181]

前記組成物が、少なくとも約 0.2 ppm の Fkpa を含む、実施態様 175～180 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 182]

前記宿主細胞が、外因性 Fkpa を発現し、前記組成物が、約 13 ppm 以下を含む、実施態様 175～181 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 183]

前記宿主細胞が、外因性 Fkpa を発現し、前記組成物が、約 0.7 ppm 以下を含む、実施態様 175～182 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 184]

前記宿主細胞が、外因性 Fkpa を発現し、前記組成物が、約 6 ppm 以下を含む、実施態様 175～183 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 185]

前記組換えポリペプチドが、二重特異性抗体であり、前記二重特異性抗体が、IL13 に結合する第 1 の結合ドメイン、及び IL17 に結合する第 2 の結合ドメインを含む、実施態様 175～184 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 186]

前記 IL13 が、配列番号 4 または配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、実施態様 185 に記載の組成物。

[実施態様 187]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 16 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 17 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む、実施態様 185 または 186 に記載の組成物。

[実施態様 188]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む VH 配列、及び配列番号 11 のアミノ酸配列を含む VL 配列を含む、実施態様 185～187 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 189]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 18 のアミノ酸配列を含む 重鎖を含む、実施態様 185～188 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 190]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む 重鎖を含む、実施態様 185～189 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 191]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む 軽鎖を含む、実施態様 185～190 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 192]

前記 IL17 が、ヒト IL17 である、実施態様 185～191 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 193]

前記第 2 の結合ドメインが、ヒト IL17AA、IL17FF、及び IL17AF に結合する、実施態様 185～192 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 194]

前記 IL 17A が、配列番号 6 または配列番号 7 のアミノ酸配列を含み、前記 IL 17F が、配列番号 8 または配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、実施態様 193 に記載の組成物。

[実施態様 195]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 28 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む、実施態様 185 ~ 194 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 196]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む VH 配列、及び配列番号 22 のアミノ酸配列を含む VL 配列を含む、実施態様 185 ~ 195 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 197]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 185 ~ 196 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 198]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 185 ~ 196 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 199]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 185 ~ 198 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 200]

前記組成物が、約 5 ppm、約 4 ppm、約 3 ppm、約 2 ppm、約 1 ppm、約 0.9 ppm、約 0.8 ppm、約 0.7 ppm、約 0.6 ppm、約 0.5 ppm、約 0.4 ppm、約 0.3 ppm、約 0.2 ppm、または約 0.1 ppm 以下の濃度の Ds b A を含む、実施態様 185 ~ 199 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 201]

前記組成物中の Ds b A の濃度が、免疫アッセイによって決定される、実施態様 200 に記載の組成物。

[実施態様 202]

前記組成物が、約 5 ppm、約 4 ppm、約 3 ppm、約 2 ppm、約 1 ppm、約 0.9 ppm、約 0.8 ppm、約 0.7 ppm、約 0.6 ppm、約 0.5 ppm、約 0.4 ppm、約 0.3 ppm、約 0.2 ppm、または約 0.1 ppm 以下の濃度の Ds b C を含む、実施態様 185 ~ 201 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 203]

前記組成物中の Ds b C の濃度が、免疫アッセイによって決定される、実施態様 202 に記載の組成物。

[実施態様 204]

二重特異性抗体を含む組成物であって、前記組換えポリペプチドが、  
a)宿主細胞に、  
i)第 1 の重鎖及び第 1 の軽鎖をコードする核酸であって、前記第 1 の重鎖及び前記第 1 の軽鎖が、第 1 の抗原結合ドメインを形成する、核酸と、  
ii)第 2 の重鎖及び第 2 の軽鎖をコードする核酸であって、前記第 2 の重鎖及び前記第 2 の軽鎖が、第 1 の抗原結合ドメインを形成する、核酸と、  
iii) Fkpa ポリペプチドをコードする核酸と、を導入することであって、前記第 1 の重鎖及び前記第 2 の重鎖が、Fc ドメインを形成する、導入することと、  
b)前記抗体を精製することと、  
を含む方法によって產生され、前記組成物が、約 5 ppm 未満の Fkpa を含む、前記

組成物。

[実施態様 205]

前記組成物が、約 1 ppm 未満の Fkpa を含む、実施態様 204 に記載の組成物。

[実施態様 206]

前記宿主細胞が、原核生物宿主細胞である、実施態様 175 ~ 205 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 207]

前記宿主細胞が、グラム陰性菌である、実施態様 206 に記載の組成物。

[実施態様 208]

前記グラム陰性菌が、E. coli である、実施態様 207 に記載の方法。

[実施態様 209]

前記 Fkpa が、E. coli Fkpa である、実施態様 175 ~ 208 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 210]

前記二重特異性抗体が、精製される、実施態様 175 ~ 209 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 211]

前記二重特異性抗体が、IL13 に結合する第 1 の結合ドメインを含む、実施態様 175 ~ 210 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 212]

前記二重特異性抗体が、IL17 に結合する第 2 の結合ドメインを含む、実施態様 175 ~ 211 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 213]

前記 IL13 が、配列番号 4 または配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、実施態様 211 または 212 に記載の組成物。

[実施態様 214]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 16 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 17 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む、実施態様 211 ~ 213 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 215]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む VH 配列、及び配列番号 11 のアミノ酸配列を含む VL 配列を含む、実施態様 211 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 216]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 18 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 211 ~ 215 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 217]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 211 ~ 215 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 218]

前記二重特異性抗体の前記第 1 の結合ドメインが、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 211 ~ 217 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 219]

前記 IL17 が、ヒト IL17 である、実施態様 211 ~ 218 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 220]

前記第 2 の結合ドメインが、ヒト IL17AA、IL17FF、及び IL17AF に結合する、実施態様 211 ~ 219 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 221]

前記 I L 17A が、配列番号 6 または配列番号 7 のアミノ酸配列を含み、前記 I L 17F が、配列番号 8 または配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、実施態様 220 に記載の組成物。

[実施態様 222]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む HVR - H1、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む HVR - H2、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む HVR - H3、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む HVR - L1、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む HVR - L2、及び配列番号 28 のアミノ酸配列を含む HVR - L3 を含む、実施態様 219 ~ 221 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 223]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む VH 配列、及び配列番号 22 のアミノ酸配列を含む VL 配列を含む、実施態様 219 ~ 222 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 224]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 219 ~ 223 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 225]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 219 ~ 223 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 226]

前記二重特異性抗体の前記第 2 の結合ドメインが、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 219 ~ 225 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 227]

前記組成物が、約 15 ppm 以下の Ds bA を含む、実施態様 175 ~ 226 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 228]

前記組成物が、約 5 ppm 以下の Ds bA を含む、実施態様 175 ~ 227 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 229]

前記組成物が、約 15 ppm 以下の Ds bC を含む、実施態様 175 ~ 228 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 230]

前記組成物が、約 5 ppm 以下の Ds bC を含む、実施態様 175 ~ 229 のいずれか一に記載の組成物。

[実施態様 231]

ポリペプチド及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記ポリペプチドの精製方法であって、

a) 前記組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を產生することと、

b) 前記親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成することと、

c) 前記混合モード溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集することと、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 232]

多重特異性抗体及び 1 つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH / VL 単位を含み、前記方法が、逐次的に、

a) 前記組成物をタンパク質 A クロマトグラフィーに供して、タンパク質 A 溶出物を産

生するステップと、

b) 前記タンパク質A溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様233]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様231または232に記載の方法。

[実施態様234]

前記親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様231に記載の方法。

[実施態様235]

前記タンパク質Aクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様232または233に記載の方法。

[実施態様236]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様231～235のいずれか一に記載の方法。

[実施態様237]

前記HICが、貫流モードで行われる、実施態様231～236のいずれか一に記載の方法。

[実施態様238]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記多重特異性抗体の各アームが、別個に產生され、前記方法が、逐次的に、

a) 前記多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を產生するステップと、

b) 前記多重特異性抗体を含む組成物を產生するのに十分な条件下で、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c) 前記多重特異性抗体を含む前記組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d) 前記混合モード溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC)に供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様239]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様238に記載の方法。

[実施態様240]

前記タンパク質Aクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様238または239に記載の方法。

[実施態様241]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様238～240のいずれか一に記載の方法。

[実施態様242]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、実施態様238～241のいずれか一に記載の方法。

[実施態様243]

前記混合モード溶出物が、疎水性相互作用クロマトグラフィー前に陰イオン交換クロマトグラフィーに供される、実施態様231～242のいずれか一に記載の方法。

[実施態様244]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様243に記載の方法。

[実施態様245]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記疎水性相互作用クロマトグラフィー画分を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む画分を収集するステップを更に含む、実施態様231～244のいずれか一に記載の方法。

[実施態様246]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様245に記載の方法。

[実施態様247]

ポリペプチド及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記ポリペプチドの精製方法であって、

a) 前記組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を產生することと、

b) 前記親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成することと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成することと、

d) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集することと、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様248]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記方法が、逐次的に、

a) 前記組成物をタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、タンパク質A溶出物を產生するステップと、

b) 前記タンパク質A溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様249]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記多重特異性抗体の各アームが、別個に產生され、前記方法が、逐次的に、

a) 前記多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を產生するステップと、

b) 前記多重特異性抗体を含む組成物を產生するのに十分な条件下で、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c) 前記多重特異性抗体を含む前記組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

e) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 250]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様 247～249のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 251]

前記親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 247に記載の方法。

[実施態様 252]

前記タンパク質Aクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 248～250のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 253]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 247～252のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 254]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 247～253のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 255]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、実施態様 247～254のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 256]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記疎水性相互作用クロマトグラフィー画分を陽イオン交換クロマトグラフィーに供するステップを更に含む、実施態様 247～255のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 257]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 247～256のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 258]

ポリペプチド及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記ポリペプチドの精製方法であって、

a) 前記組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を產生することと、

b) 前記親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成することと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成することと、

d) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集することと、

e) 前記疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集することと、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 259]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記方法が、逐次的に、

a) 前記組成物をタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、タンパク質A溶出物を產生するステップと、

b) 前記タンパク質A溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d ) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、

e ) 前記疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 260]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記多重特異性抗体の各アームが、別個に產生され、前記方法が、逐次的に、

a ) 前記多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を產生するステップと、

b ) 前記多重特異性抗体を含む組成物を產生するのに十分な条件下で、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c ) 前記多重特異性抗体を含む前記組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d ) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

e ) 前記陰イオン交換溶出物を疎水性相互作用クロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、

f ) 前記疎水性相互作用溶出物を陽イオン交換クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様 261]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様 258～260のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 262]

前記親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 258に記載の方法。

[実施態様 263]

前記タンパク質Aクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 259～261のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 264]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 258～263のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 265]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 258～264のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 266]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、実施態様 258～265のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 267]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様 258～266のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 268]

ポリペプチド及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記ポリペプチドの精製方法であって、逐次的に、

a ) 前記組成物を親和性クロマトグラフィーに供して、親和性溶出物を產生するステップと、

b ) 前記親和性溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d) 前記陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイト(hydroxyapatite)クロマトグラフィーに供し、前記ポリペプチドを含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様269]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記方法が、逐次的に、

a) 前記組成物をタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、タンパク質A溶出物を產生するステップと、

b) 前記タンパク質A溶出物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

c) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

d) 前記陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様270]

多重特異性抗体及び1つ以上の不純物を含む組成物からの前記多重特異性抗体の精製方法であって、前記多重特異性抗体が、複数のアームを含み、各アームが、VH/VL単位を含み、前記多重特異性抗体の各アームが、別個に產生され、前記方法が、逐次的に、

a) 前記多重特異性抗体の各アームをタンパク質Aクロマトグラフィーに供して、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を產生するステップと、

b) 前記多重特異性抗体を含む組成物を產生するのに十分な条件下で、前記多重特異性抗体の各アームのタンパク質A溶出物を含む混合物を形成するステップと、

c) 前記多重特異性抗体を含む前記組成物を混合モードクロマトグラフィーに供して、混合モード溶出物を生成するステップと、

d) 前記混合モード溶出物を陰イオン交換クロマトグラフィーに供して、陰イオン交換溶出物を生成するステップと、

e) 前記陰イオン交換溶出物をヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーに供し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集し、前記多重特異性抗体を含む画分を収集するステップと、を含み、

前記組成物からの産物特異的不純物の量を低減する、前記方法。

[実施態様271]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーである、実施態様268～270のいずれか一に記載の方法。

[実施態様272]

前記親和性クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様271に記載の方法。

[実施態様273]

前記タンパク質Aクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様269～272のいずれか一に記載の方法。

[実施態様274]

前記混合モードクロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様268～273のいずれか一に記載の方法。

[実施態様275]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、結合及び溶出モードで行われる、実施態様268～274のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 276]

前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、貫流モードで行われる、実施態様 268～275 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 277]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記ヒドロキシアパタイト相互作用クロマトグラフィー画分を限外濾過に供するステップを更に含む、実施態様 231～245 または 256～267 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 278]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記陽イオン交換画分を限外濾過に供するステップを更に含む、実施態様 245～246 または 256～267 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 279]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー画分を限外濾過に供するステップを更に含む、実施態様 267～276 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 280]

前記限外濾過が、第 1 の限外濾過、透析濾過、及び第 2 の限外濾過を逐次的に含む、実施態様 277～279 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 281]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、アガロースに結合しているタンパク質 A を含む、実施態様 232～233、235～246、248～250、252～257、259～261、263～270、または 269～276 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 282]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、Mab Select (商標)、Mab Select (商標) Sure、及び Mab Select (商標) Sure LX、Prosep-VA、Prosep-VA Ultra Plus、Protein A Sepharose (登録商標) fast flow、または Tyopearl Protein A クロマトグラフィーである、実施態様 281 に記載の方法。

[実施態様 283]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、タンパク質 A 平衡化緩衝液、タンパク質 A 装填緩衝液、またはタンパク質 A 洗浄緩衝液のうちの 1 つ以上を使用し、前記平衡化緩衝液、装填緩衝液、及び / または洗浄緩衝液が、約 pH 7～約 pH 8 である、実施態様 281 または 282 に記載の方法。

[実施態様 284]

前記タンパク質 A 平衡化緩衝液が、約 pH 7.7 である、実施態様 283 に記載の方法。

[実施態様 285]

前記タンパク質 A 平衡化緩衝液が、約 25 mM の Tris 及び約 25 mM の NaCl を含む、実施態様 283 または 284 に記載の方法。

[実施態様 286]

前記タンパク質 A クロマトグラフィーが、装填後に平衡化緩衝液で洗浄される、実施態様 283～285 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 287]

第 2 の洗浄及び第 3 の洗浄を更に含み、前記第 2 の洗浄が、1 M のアルギニンであり、前記第 3 の洗浄が、平衡化緩衝液である、実施態様 286 に記載の方法。

[実施態様 288]

前記多重特異性抗体が、pH 勾配によって前記タンパク質 A クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 283～287 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 289]

前記多重特異性抗体が、低 pH を有するタンパク質 A 溶出緩衝液を前記タンパク質 A ク

クロマトグラフィーに適用することによって、タンパク質Aから溶出される、実施態様283～288のいずれか一に記載の方法。

[実施態様290]

前記タンパク質A溶出緩衝液が、約150mMの酢酸（約pH2.8または約pH2.9）を含む、実施態様289に記載の方法。

[実施態様291]

前記タンパク質A溶出物が、プールされ、前記溶出物のOD<sub>280</sub>が、約0.5を超える、実施態様283～290のいずれか一に記載の方法。

[実施態様292]

前記混合モードクロマトグラフィーが、四級アミン及び疎水性部分を含む、実施態様231～291のいずれか一に記載の方法。

[実施態様293]

前記混合モードクロマトグラフィーが、四級アミン及び高架橋アガロースに結合している疎水性部分を含む、実施態様231～292のいずれか一に記載の方法。

[実施態様294]

前記混合モードクロマトグラフィーが、N-ベンジル-n-メチルエタノールアミンを含む、実施態様231～293のいずれか一に記載の方法。

[実施態様295]

前記混合モードクロマトグラフィーが、Capto（商標）adhereクロマトグラフィーである、実施態様294に記載の方法。

[実施態様296]

前記混合モードクロマトグラフィーが、混合モード事前平衡化緩衝液、混合モード平衡化緩衝液、混合モード装填緩衝液、または混合モード洗浄緩衝液のうちの1つ以上を使用し、前記混合モード事前平衡化緩衝液、前記混合モード平衡化緩衝液、及び／または混合モード洗浄緩衝液が、約pH6～約pH7である、実施態様231～295のいずれか一に記載の方法。

[実施態様297]

前記混合モード事前平衡化緩衝液、前記混合モード平衡化緩衝液、及び／または混合モード洗浄緩衝液が、約pH6.5である、実施態様296に記載の方法。

[実施態様298]

前記混合モード事前平衡化緩衝液が、約200mMの酢酸塩または約500mMの酢酸塩を含む、実施態様296または297に記載の方法。

[実施態様299]

前記混合モード平衡化緩衝液が、約50mMの酢酸塩を含む、実施態様296～298のいずれか一に記載の方法。

[実施態様300]

前記混合モードクロマトグラフィーが、装填後に洗浄緩衝液で洗浄される、実施態様296～299のいずれか一に記載の方法。

[実施態様301]

前記洗浄緩衝液が、約50mMの酢酸塩（約pH6.5）または約200mMの酢酸塩（約pH6.5）である、実施態様300に記載の方法。

[実施態様302]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、pH勾配によって前記混合モードクロマトグラフィーから溶出される、実施態様231～301のいずれか一に記載の方法。

[実施態様303]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、低pHを有する混合モード溶出緩衝液を前記混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーに適用することによって、前記混合モードクロマトグラフィーから溶出される、実施態様231～302のいずれか一に記載の方法。

[実施態様304]

前記混合モード溶出緩衝液が、約25mMの酢酸塩（約pH5.2または約pH5.0）を含む、実施態様303に記載の方法。

[実施態様305]

前記混合モード溶出物が、プールされ、前記溶出物のOD<sub>280</sub>が、約0.5超～約1.0である、実施態様231～304のいずれか一に記載の方法。

[実施態様306]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）が、疎水性部分を含む、実施態様231～267のいずれか一に記載の方法。

[実施態様307]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、フェニル部分を含む、実施態様306に記載の方法。

[実施態様308]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、架橋アガロースに結合している疎水性部分を含む、実施態様306または307に記載の方法。

[実施態様309]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、架橋アガロースに結合しているフェニル部分またはブチル部分を含む、実施態様306～308のいずれか一に記載の方法。

[実施態様310]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、phenyl Sepharose（登録商標）クロマトグラフィーまたはButyl Sepharose（登録商標）クロマトグラフィーである、実施態様309に記載の方法。

[実施態様311]

前記疎水性相互作用交換クロマトグラフィーが、HIC平衡化緩衝液、HIC装填緩衝液、またはHIC洗浄緩衝液のうちの1つ以上を使用し、前記HIC平衡化緩衝液、前記装填緩衝液、及び／または前記HIC洗浄緩衝液が、約pH5～約pH6である、実施態様306～310のいずれか一に記載の方法。

[実施態様312]

前記HIC平衡化緩衝液、前記装填緩衝液、及び／または前記洗浄緩衝液が、約pH5.5である、実施態様311に記載の方法。

[実施態様313]

前記HIC平衡化緩衝液及び前記洗浄緩衝液が、約170mMの酢酸塩を含む、実施態様311または312に記載の方法。

[実施態様314]

前記HIC装填緩衝液が、50mMのTris、100mMの酢酸ナトリウム（pH約5.5）である、実施態様311～313のいずれか一に記載の方法。

[実施態様315]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、装填後にHIC洗浄緩衝液で洗浄される、実施態様311～314のいずれか一に記載の方法。

[実施態様316]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、ヘキシル部分を含む、実施態様306～315のいずれか一に記載の方法。

[実施態様317]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、ヒドロキシル化メタクリルポリマーに結合している疎水性部分を含む、実施態様306に記載の方法。

[実施態様318]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、ヒドロキシル化メタクリルポリマーに結合しているヘキシル部分を含む、実施態様316または317に記載の方法。

[実施態様319]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、TOYOPEARL（登録商標）Hexyl 1650Cである、実施態様318に記載の方法。

[実施態様 320]

前記疎水性相互作用交換クロマトグラフィーが、HIC 平衡化緩衝液、HIC 装填緩衝液、または HIC 洗浄緩衝液のうちの 1 つ以上を使用し、前記 HIC 平衡化緩衝液、前記 HIC 装填緩衝液、及び / または前記 HIC 洗浄緩衝液が、約 pH 6 ~ 約 pH 8 である、実施態様 316 ~ 319 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 321]

前記 HIC 平衡化緩衝液、前記装填緩衝液、及び / または前記洗浄緩衝液が、約 pH 7 . 0 である、実施態様 320 に記載の方法。

[実施態様 322]

前記 HIC 平衡化緩衝液及び前記洗浄緩衝液が、約 50 mM の 3 - (N - モルホリノ) プロパンスルホン酸 (MOPS) 及び 125 mM の酢酸塩を含む、実施態様 320 または 321 に記載の方法。

[実施態様 323]

前記疎水性相互作用クロマトグラフィーが、装填後に HIC 洗浄緩衝液で洗浄される、実施態様 316 ~ 322 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 324]

前記疎水性相互作用溶出物が、プールされ、前記溶出物の OD<sub>280</sub> が、約 0 . 5 超 ~ 約 1 . 0 である、実施態様 306 ~ 323 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 325]

陰イオン交換クロマトグラフィーが、四級アミンを含む、実施態様 243、244、または 247 ~ 324 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 326]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、架橋アガロースに結合している四級アミンを含む、実施態様 325 に記載の方法。

[実施態様 327]

前記混合モード陰イオン交換クロマトグラフィーが、Q S F F クロマトグラフィーである、実施態様 326 に記載の方法。

[実施態様 328]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、陰イオン交換事前平衡化緩衝液、陰イオン交換平衡化緩衝液、または陰イオン交換装填緩衝液のうちの 1 つ以上を使用し、前記陰イオン交換事前平衡化緩衝液、前記陰イオン交換平衡化緩衝液、及び / または陰イオン交換前記装填緩衝液が、約 pH 8 ~ 約 pH 9 である、実施態様 325 ~ 327 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 329]

前記陰イオン交換事前平衡化緩衝液、前記陰イオン交換平衡化緩衝液、及び / または前記陰イオン交換装填緩衝液が、約 pH 8 . 5 である、実施態様 328 に記載の方法。

[実施態様 330]

前記陰イオン交換事前平衡化緩衝液が、約 50 mM の Tris 及び約 500 mM の酢酸ナトリウムまたは約 100 mM の酢酸ナトリウムを含む、実施態様 328 または 329 に記載の方法。

[実施態様 331]

前記陰イオン交換平衡化緩衝液が、約 50 mM の Tris を含む、実施態様 328 ~ 330 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 332]

前記陰イオン交換クロマトグラフィーが、装填後に陰イオン交換平衡化緩衝液で洗浄される、実施態様 328 ~ 331 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 333]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、塩勾配によって前記陰イオン交換クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 328 ~ 332 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 334]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、増加した塩濃度を有する陰イオン交換溶出緩衝液を前記陰イオン交換クロマトグラフィーに適用することによって、前記陰イオン交換クロマトグラフィーから溶出される、実施態様328～333のいずれか一に記載の方  
法。

[実施態様335]

前記陰イオン交換溶出緩衝液が、約50mMのTris及び約100mMの酢酸ナトリウム(約pH8.5)を含む、実施態様334に記載の方法。

[実施態様336]

前記陰イオン交換溶出物が、プールされ、前記溶出物のOD<sub>280</sub>が、約0.5超～約1.0である、実施態様328～335のいずれか一に記載の方法。

[実施態様337]

前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、セラミックヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーである、実施態様267～280のいずれか一に記載の方法。

[実施態様338]

前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、CHT I型セラミックヒドロキシアパタイト(hydroxyapatite)クロマトグラフィーである、実施態様337に記載の方法。

[実施態様339]

前記ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーが、ヒドロキシアパタイト緩衝液Aまたはヒドロキシアパタイト緩衝液Bのうちの1つ以上を使用し、前記ヒドロキシアパタイト緩衝液Bが、ヒドロキシアパタイト緩衝液Aと比較してより高い伝導度を有する、実施態様337または338に記載の方法。

[実施態様340]

前記ヒドロキシアパタイト緩衝液Aが、約10mMのリン酸ナトリウム(約pH6.8)を含む平衡化緩衝液である、実施態様339に記載の方法。

[実施態様341]

前記ヒドロキシアパタイト緩衝液Bが、約10mMのリン酸ナトリウム及び約1M塩化ナトリウム(約pH6.8)を含む、実施態様339または340に記載の方法。

[実施態様342]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、ヒドロキシアパタイト緩衝液A中のヒドロキシアパタイト緩衝液Bの勾配を使用して、ヒドロキシアパタイト(hydroxyapatite)クロマトグラフィーから溶出される、実施態様339～341のいずれか一に記載の方法。

[実施態様343]

前記勾配が、線形勾配である、実施態様342に記載の方法。

[実施態様344]

前記勾配が、0%のヒドロキシアパタイト緩衝液Bから100%のヒドロキシアパタイト緩衝液Bへと増加する、実施態様342または343に記載の方法。

[実施態様345]

前記勾配が、約20カラム体積中、0%のヒドロキシアパタイト緩衝液Bから100%のヒドロキシアパタイト緩衝液Bへと増加する、実施態様342～344のいずれか一に記載の方法。

[実施態様346]

前記ヒドロキシアパタイト溶出物が、プールされ、前記溶出物のOD<sub>280</sub>が、約0.5超～約1.0である、実施態様337～345のいずれか一に記載の方法。

[実施態様347]

陽イオン交換クロマトグラフィーが、カルボン酸部分またはスルホン酸部分を含む、実施態様245～246または256～326のいずれか一に記載の方法。

[実施態様348]

前記カルボン酸部分または前記スルホン酸部分が、スルホプロピル、スルホエチル、ス

ルホイソブチル、またはカルボキシル部分である、実施態様 347 に記載の方法。

[実施態様 349]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、架橋アガロースに結合しているカルボン酸部分またはスルホン酸部分を含む、実施態様 347 または 348 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 350]

前記陽イオン交換材料が、POROS (登録商標) HS50、POROS (登録商標) HS20、SO3 Monolith、SCeramic HyperD、スルホプロピル-Sephadose (登録商標) Fast Flow (SPSFF)、SP-Sephadose (登録商標) XL (SPXL)、CM Sephadose (登録商標) Fast Flow、Capto (商標) S、Fractogel Se HiCap、Fractogel SO3、またはFractogel COOである、実施態様 348 または 349 に記載の方法。

[実施態様 351]

前記陽イオン交換装填密度が、約 20 g / L 未満である、実施態様 347 ~ 350 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 352]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、陽イオン交換事前平衡化緩衝液、陽イオン交換平衡化緩衝液、陽イオン交換装填緩衝液、または陽イオン交換洗浄緩衝液のうちの 1 つ以上を使用し、前記陽イオン交換事前平衡化緩衝液、前記陽イオン交換平衡化緩衝液、前記陽イオン交換装填緩衝液、及び / または陽イオン交換洗浄緩衝液が、約 pH 5.0 ~ 約 pH 6.0 である、実施態様 347 ~ 351 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 353]

前記陽イオン交換陽イオン交換、前記平衡化緩衝液、前記陽イオン交換装填緩衝液、及び / または陽イオン交換洗浄緩衝液が、約 pH 5.5 または約 pH 5.8 である、実施態様 352 に記載の方法。

[実施態様 354]

前記陽イオン交換平衡化緩衝液が、50 mM の酢酸ナトリウムを含む、実施態様 352 または 353 に記載の方法。

[実施態様 355]

前記陽イオン交換洗浄緩衝液が、50 mM の酢酸ナトリウムを含む、実施態様 352 ~ 354 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 356]

前記陽イオン交換クロマトグラフィーが、装填後に平衡化緩衝液で洗浄される、実施態様 352 ~ 355 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 357]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、塩勾配によって前記陽イオン交換クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 352 ~ 356 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 358]

前記ポリペプチドまたは多重特異性抗体が、増加した塩濃度を有する陽イオン交換溶出緩衝液を前記陽イオン交換クロマトグラフィーに適用することによって、前記陽イオン交換クロマトグラフィーから溶出される、実施態様 352 ~ 357 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 359]

前記陽イオン交換溶出緩衝液が、500 mM の酢酸ナトリウム (約 pH 5.8) を含む、実施態様 358 に記載の方法。

[実施態様 360]

前記溶出が、10% ~ 100% の陽イオン交換溶出緩衝液の勾配溶出である、実施態様 359 に記載の方法。

[実施態様 361]

前記陽イオン交換溶出物が、プールされ、前記溶出物のOD<sub>280</sub>が、約0.5超～約1.0である、実施態様352～360のいずれか一に記載の方法。

[実施態様362]

前記ポリペプチドまたは前記多重特異性抗体が、細胞内で產生される、実施態様251～361のいずれか一に記載の方法。

[実施態様363]

前記多重特異性抗体の前記アームが、細胞内で產生される、実施態様361に記載の方法。

[実施態様364]

前記細胞が、原核生物細胞である、実施態様362または363に記載の方法。

[実施態様365]

前記原核生物細胞が、E.coli細胞である、実施態様364に記載の方法。

[実施態様366]

前記細胞が、1つ以上のシャペロンを発現するように操作される、実施態様364または365に記載の方法。

[実施態様367]

前記シャペロンが、FkpA、DsbA、またはDsbCのうちの1つ以上である、実施態様366に記載の方法。

[実施態様368]

前記シャペロンが、E.coliシャペロンである、実施態様366または367に記載の方法。

[実施態様369]

前記細胞が溶解されて、前記ポリペプチドまたは前記多重特異性抗体を含む細胞溶解物を生成する、実施態様362～368のいずれか一に記載の方法。

[実施態様370]

前記細胞が溶解されて、タンパク質Aクロマトグラフィー前に前記多重特異性抗体または前記多重特異性抗体のアームを含む細胞溶解物を生成する、実施態様369に記載の方法。

[実施態様371]

前記細胞が、微小流動化剤を使用して溶解される、実施態様369または370に記載の方法。

[実施態様372]

ポリエスリエンイミン(polyethylenimine)(PEI)が、クロマトグラフィー前に前記細胞溶解物に添加される、実施態様369～371のいずれか一に記載の方法。

[実施態様373]

前記PEIが、約0.4%の最終濃度になるまで前記溶解物に添加される、実施態様372に記載の方法。

[実施態様374]

前記細胞溶解物が、遠心分離によって浄化される、実施態様369～373のいずれか一に記載の方法。

[実施態様375]

前記産物特異的不純物が、非対合抗体アーム、抗体ホモ二量体、凝集体、高分子量種(HMW)、低分子量種(LMW)、酸性変異形、または塩基性変異形のうちの1つ以上である、実施態様251～373のいずれか一に記載の方法。

[実施態様376]

前記方法が、前記組成物中のE.coliタンパク質(ECP)、FkpA、DsbA、DsbC、浸出タンパク質A、核酸、細胞培養培地成分、またはウイルス不純物のうちのいずれか1つの量を低減する、実施態様251～375のいずれか一に記載の方法。

[実施態様377]

前記多重特異性抗体が、二重特異性抗体である、実施態様 232～245、247～257、259～267、または269～376のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 378]

前記多重特異性抗体の第1のアームが、IL13に結合する、実施態様 377 に記載の方法。

[実施態様 379]

前記 IL13 が、ヒト IL13 である、実施態様 378 に記載の方法。

[実施態様 380]

前記 IL13 が、配列番号 1 または配列番号 2 のアミノ酸配列を含む、実施態様 378 または 379 に記載の方法。

[実施態様 381]

前記多重特異性抗体の前記第1のアームが、配列番号 7 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 12 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む、実施態様 378～380 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 382]

前記多重特異性抗体の前記第1のアームが、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む VH 配列、及び配列番号 14 のアミノ酸配列を含む VL 配列を含む、実施態様 378～381 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 383]

前記多重特異性抗体の前記第1のアームが、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 378～382 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 384]

前記多重特異性抗体の前記第1のアームが、配列番号 16 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 378～383 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 385]

前記多重特異性抗体の前記第1のアームが、配列番号 17 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 378～384 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 386]

前記抗体の第2のアームが、IL17に結合する、実施態様 378～385 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 387]

前記 IL17 が、ヒト IL17 である、実施態様 386 に記載の方法。

[実施態様 388]

前記 IL17 が、配列番号 3 、配列番号 4 、配列番号 5 、または配列番号 6 のアミノ酸配列を含む、実施態様 386 または 387 に記載の方法。

[実施態様 389]

前記多重特異性抗体の第2のアームが、配列番号 18 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、配列番号 22 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び配列番号 23 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 を含む、実施態様 386～388 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 390]

前記多重特異性抗体の前記第2のアームが、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む VH 配列、及び配列番号 26 のアミノ酸配列を含む VL 配列を含む、実施態様 386～389 のいずれか一に記載の方法。

[実施態様 391]

前記多重特異性抗体の前記第2のアームが、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 386～390 のいずれか一に記載の方法。

[ 実施態様 3 9 2 ]

前記多重特異性抗体の前記第 2 のアームが、配列番号 2 8 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、実施態様 3 8 6 ~ 3 9 1 のいずれか一に記載の方法。

[ 実施態様 3 9 3 ]

前記多重特異性抗体の前記第 2 のアームが、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様 3 8 6 ~ 3 9 3 のいずれか一に記載の方法。

[ 実施態様 3 9 4 ]

実施態様 2 3 1 ~ 3 9 3 のいずれか一に記載の方法によって精製されたポリペプチドまたは多重特異性抗体を含む、組成物であつて、約 5 %、4 %、3 %、2 %、または 1 %以下の産物特異的不純物を含む、前記組成物。

[ 実施態様 3 9 5 ]

前記産物特異的不純物が、非対合抗体アーム、抗体ホモ二量体、凝集体、高分子量種 (H MW)、低分子量種 (L MW)、酸性変異形、または塩基性変異形のうちの 1 つ以上である、実施態様 3 9 4 に記載の組成物。

[ 実施態様 3 9 6 ]

前記組成物が、約未満を含み、組成物が、前記組成物中、約 5 %、4 %、3 %、2 %、または 1 %以下の E . c o l i タンパク質 (E C P)、F k p A、D s b A、D s b C、浸出タンパク質 A、核酸、細胞培養培地成分、またはウイルス不純物のうちのいずれか 1 つを含む、実施態様 3 9 4 または 3 9 5 に記載の組成物。