

【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】平成30年8月9日 (2018.8.9)

【公表番号】特表2017-520261(P2017-520261A)

【公表日】平成29年7月27日 (2017.7.27)

【年通号数】公開・登録公報2017-028

【出願番号】特願2017-500849(P2017-500849)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成30年7月2日 (2018.7.2)

【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】

抗体及びその断片を生産する工程であって、次のステップ：

(i) 宿主細胞を、基本的に二重シストロン発現システムからなる単一ベクターを用いて形質転換させること、

(i i) 封入体において前記抗体及びその断片を発現するために、適切な培地中で形質転換された前記宿主細胞を培養すること、

(i i i) 前記封入体の可溶化を行うこと、

(i v) 前記抗体及びその断片の再折りたたみを行うこと、を含む、工程であって、

前記二重シストロン発現システムであって、

a) 前記抗体及びその断片の重鎖又は軽鎖をコードするポリヌクレオチド配列と操作可能に連結されるプロモーターを含む第一のシストロン、

b) 前記抗体及びその断片の重鎖又は軽鎖をコードするポリヌクレオチド配列と操作可能に連結されるプロモーターを含む第二のシストロン、を含む、

ここで、前記第一および第二のシストロンは、前記単一ベクター中に配置され、封入体として前記抗体及びその断片を発現し、

前記重鎖及び軽鎖は、等モル発現量で発現する、システム。

【請求項 2】

前記宿主細胞は、E . c o l i である請求項 1 に記載の工程。

【請求項 3】

前記第一のシストロン及び前記第二のシストロンは、T 7、アラビノース、p h o A、t a c、l p p、l a c - l p p、l a c、t r p、および t r c から選択されるプロモーターを含む、請求項 1 に記載の工程。

【請求項 4】

前記第一のシストロン及び前記第二のシストロンは、異なるプロモーターを含む請求項 1 に記載の工程。

【請求項 5】

前記第一のシストロン又は前記第二のシストロンは、T7プロモーターまたはアラビノースプロモーターを含む請求項1に記載の工程。

【請求項 6】

前記第一のシストロン又は前記第二のシストロンは、T7プロモーターまたはアラビノースプロモーターを含み、約1 mMのIPTG及び13 mMのアラビノースが誘導に用いられる、請求項1に記載の工程。

【請求項 7】

前記第一のシストロン及び前記第二のシストロンは、1よりも大きいOD₆₀₀で誘導される、請求項1に記載の工程。

【請求項 8】

前記第一のシストロン及び前記第二のシストロンは、配列ID no 1及び2に記述されるポリヌクレオチド配列をコードしている、請求項1に記載の工程。

【請求項 9】

前記二重シストロン発現システムは、配列ID no 19に記述されるヌクレイチド配列を含む、請求項1に記載の工程。

【請求項 10】

ラニビズマブ(Ranibizumab)を生産するための工程であって、次の工程；

(i) E.coliを、基本的に二重シストロン発現システムからなる単一ベクターを用いて形質転換させること、

(ii) 前記第一シストロン及び第二のシストロンが、封入体として前記ラニビズマブの前記重鎖及び軽鎖を発現させるように適切な培地中で形質転換された前記E.coliを培養すること、

(iii) 前記封入体の可溶化を行うこと、

(iv) 機能的なラニビズマブを得るために適切な条件で前記封入体の再折りたたみを行うこと、

を含む、工程であって、

前記第一のシストロンは、ラニビズマブの前記重鎖をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結された第1のプロモータを有し、第二のシストロンは、ラニビズマブの前記軽鎖をコードするポリヌクレオチド配列に操作可能に連結された第2のプロモータを有し、

前記重鎖及び前記軽鎖は、SDS-PAGEにより測定されるように等モル量で発現され、

前記第一のシストロン及び前記第二のシストロンがT7プロモータ又はアラビノースプロモータからなり、

約1 mMのIPTG及び13 mMのアラビノースがラニビズマブの前記重鎖及び軽鎖の発現に用いられる、請求項1に記載の工程。