

【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29年11月9日(2017.11.9)

【公表番号】特表2016-532457(P2016-532457A)

【公表日】平成28年10月20日(2016.10.20)

【年通号数】公開・登録公報2016-060

【出願番号】特願2016-547976(P2016-547976)

【国際特許分類】

C 1 2 N	5/07	(2010.01)
C 1 2 M	1/00	(2006.01)
C 1 2 N	1/16	(2006.01)
C 1 2 N	5/12	(2006.01)
C 1 2 N	5/18	(2006.01)
C 1 2 N	5/22	(2006.01)
C 1 2 N	1/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	1/14	(2006.01)
C 0 7 K	16/00	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	5/07	
C 1 2 M	1/00	D
C 1 2 N	1/16	B
C 1 2 N	5/12	
C 1 2 N	5/18	
C 1 2 N	5/22	
C 1 2 N	1/00	U
C 1 2 N	15/00	A
C 0 7 K	1/14	
C 0 7 K	16/00	
C 0 7 K	19/00	

【手続補正書】

【提出日】平成29年9月27日(2017.9.27)

【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】

細胞を培養するための方法であって、

(a) 細胞を、第1の細胞培養において培養する工程

(b) ラクテート消費への代謝シフトが該第1の細胞培養において起こったことを決定する工程、および

(c) 該細胞におけるラクテート消費への該代謝シフトが起こった後に、該細胞を、第2の細胞培養に移す工程、

を包含し、ここで該第2の細胞培養におけるラクテート濃度は、正味のラクテート消費を示す、方法。

【請求項 2】

前記細胞は、第1の細胞培養において細胞を培養する前に、目的のポリペプチドをコードするDNAでトランスフェクトされ、前記方法は、前記第2の細胞培養を、該目的のポリペプチドの発現を可能にする条件下で維持する工程、および該目的のポリペプチドを該第2の細胞培養から採取する工程を包含する、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

ラクテート消費への前記代謝シフトは、前記第1の細胞培養におけるpH、ラクテートもしくは塩基の測定によって検出される、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

ラクテート消費への前記代謝シフトは、塩基の添加なしの前記第1の細胞培養培地におけるpH増大後に検出される、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 5】

前記代謝シフトは、細胞が前記第1の細胞培養において対数期から抜け出したときに起こるか、または静止期に達したときに起こる、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 6】

前記代謝シフトは、ラクテートレベルが前記第1の細胞培養においてプラトーに達したときに起こる、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 7】

前記代謝シフトは、前記第1の細胞培養における細胞増殖3日間でまたはそれより後、該第1の細胞培養において起こる、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 8】

前記移された細胞は、前記第2の細胞培養において、約 0.5×10^6 細胞/mL～約 3.0×10^6 細胞/mLの間の接種細胞密度を有する、請求項1～7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 9】

前記代謝シフトを決定する工程は、

- (a) 前記第1の細胞培養においてpHを測定する工程
- (b) 塩基を添加して、pHを所定の下限より高く維持する工程、
- (c) 該pHが該所定の下限より高いことを、間隔をあけて引き続いて決定する工程、および
- (d) 該塩基の添加を中止する工程、

を包含し、それによって、ラクテート消費への該代謝シフトは、該第1の細胞培養において起こったことを決定する、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 10】

前記第1の細胞培養は、シードトレイン培養である、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 11】

前記第2の細胞培養は、生産培養である、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 12】

細胞を第2の細胞培養に移す工程は、細胞を生産用バイオリアクターに移す工程を包含する、請求項1～11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 13】

前記目的のポリペプチドは、抗体、抗原結合タンパク質、および融合タンパク質からなる群より選択される、請求項2～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 14】

1種またはそれより多くの核酸配列は、前記細胞の細胞ゲノムの中に安定して組み込まれ、ここで該核酸配列は目的のポリペプチドをコードする、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞は、目的のポリペプチドをコードする1種またはそれより多くの発現ベクターを含む、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 16】

前記目的のポリペプチドは、抗体、抗原結合タンパク質、および融合タンパク質からなる群より選択される、請求項14または請求項15に記載の方法。

【請求項 17】

前記細胞は、CHO細胞、COS細胞、網膜細胞、Vero細胞、CV1細胞、HEK293細胞、293EBNA細胞、MSR293細胞、MDCK細胞、HaK細胞、BHK21細胞、HeLa細胞、HepG2細胞、WI38細胞、MRC5細胞、Colo25細胞、HB8065細胞、HL-60細胞、Jurkat細胞、Daudi細胞、A431細胞、CV-1細胞、U937細胞、3T3細胞、L細胞、C127細胞、SP2/0細胞、NS-0細胞、MMT細胞、PER.C6細胞、ネズミリンパ系細胞、およびネズミハイブリドーマ細胞からなる群より選択される、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0027

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0027】

本発明のいくつかの実施形態において、上記細胞は、CHO細胞、COS細胞、網膜細胞、Vero細胞、CV1細胞、HEK293細胞、293EBNA細胞、MSR293細胞、MDCK細胞、HaK細胞、BHK21細胞、HeLa細胞、HepG2細胞、WI38細胞、MRC5細胞、Colo25細胞、HB8065細胞、HL-60細胞、Jurkat細胞、Daudi細胞、A431細胞、CV-1細胞、U937細胞、3T3細胞、L細胞、C127細胞、SP2/0細胞、NS-0細胞、MMT細胞、PER.C6細胞、ネズミリンパ系細胞、およびネズミハイブリドーマ細胞からなる群より選択される。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

細胞を培養するための方法であって、

(a) 細胞を、第1の細胞培養において培養する工程

(b) ラクテート消費への代謝シフトが該第1の細胞培養において起こったことを決定する工程、および

(c) 該細胞におけるラクテート消費への該代謝シフトが起こった後に、該細胞を、第2の細胞培養に移す工程、

を包含し、ここで該第2の細胞培養におけるラクテート濃度は、正味のラクテート消費を示す、方法。

(項目2)

前記細胞は、第1の細胞培養において細胞を培養する前に、目的のポリペプチドをコードするDNAでトランスフェクトされ、前記方法は、前記第2の細胞培養を、該目的のポリペプチドの発現を可能にする条件下で維持する工程、および該目的のポリペプチドを該第2の細胞培養から採取する工程を包含する、項目1に記載の方法。

(項目3)

ラクテート消費への前記代謝シフトは、前記第1の細胞培養におけるpH、ラクテートもしくは塩基の測定によって検出される、項目1または2に記載の方法。

(項目4)

ラクテート消費への前記代謝シフトは、塩基の添加なしの前記第1の細胞培養培地にお

ける pH 増大後に検出される、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5)

前記代謝シフトは、細胞が前記第 1 の細胞培養において対数期から抜け出したときに起こるか、または静止期に達したときに起こる、項目 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 6)

前記代謝シフトは、ラクテートレベルが前記第 1 の細胞培養においてプラトーに達したときに起こる、項目 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 7)

前記代謝シフトは、前記第 1 の細胞培養における細胞増殖 3 日間でまたはそれより後に、該第 1 の細胞培養において起こる、項目 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8)

前記移された細胞は、前記第 2 の細胞培養において、約 0.5×10^6 細胞 / mL ~ 約 3.0×10^6 細胞 / mL の間の接種細胞密度を有する、項目 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9)

前記代謝シフトを決定する工程は、

a. 前記第 1 の細胞培養において pH を測定する工程

b. 塩基を添加して、pH を所定の下限より高く維持する工程、

c. 該 pH が該所定の下限より高いことを、間隔をあけて引き続いて決定する工程、および

d. 該塩基の添加を中止する工程、

を包含し、それによって、ラクテート消費への該代謝シフトは、該第 1 の細胞培養において起こったことを決定する、項目 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 10)

前記第 1 の細胞培養は、シードトレイン培養である、項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 11)

前記第 2 の細胞培養は、生産培養である、項目 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 12)

細胞を第 2 の細胞培養に移す工程は、細胞を生産用バイオリアクターに移す工程を包含する、項目 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 13)

前記目的のタンパク質は、抗体、抗原結合タンパク質、および融合タンパク質からなる群より選択される、項目 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 14)

項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法によって生産される、代謝がシフトした宿主細胞。

(項目 15)

細胞ゲノムの中に安定して組み込まれた 1 種またはそれより多くの核酸配列を含み、ここで該核酸配列は目的のタンパク質をコードする、項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法によって生産される、代謝がシフトした宿主細胞。

(項目 16)

目的のタンパク質をコードする 1 種またはそれより多くの発現ベクターを含む、項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法によって生産される、代謝がシフトした宿主細胞。

(項目 17)

前記目的のタンパク質は、抗体、抗原結合タンパク質、および融合タンパク質からなる群より選択される、項目 15 または項目 16 に記載の宿主細胞。

(項目 18)

前記細胞は、CHO 細胞、COS 細胞、網膜細胞、Vero 細胞、CV1 細胞、HEK 293 細胞、293 EBNA 細胞、MSR 293 細胞、MDCK 細胞、Hak 細胞、

B H K 2 1 細胞、H e L a 細胞、H e p G 2 細胞、W I 3 8 細胞、M R C 5 細胞、C o
l o 2 5 細胞、H B 8 0 6 5 細胞、H L - 6 0 細胞、J u r k a t 細胞、D a u d i 細
胞、A 4 3 1 細胞、C V - 1 細胞、U 9 3 7 細胞、3 T 3 細胞、L 細胞、C 1 2 7 細胞、
S P 2 / 0 細胞、N S - 0 細胞、M M T 細胞、P E R . C 6 細胞、ネズミリンパ系細胞、
およびネズミハイブリドーマ細胞からなる群より選択される、項目 1 4 ~ 1 7 のいずれか
1 項に記載の宿主細胞。