【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1月14日(2021.1.14)

【公表番号】特表2020-503855(P2020-503855A)
【公表日】令和2年2月6日(2020.2.6)
【年通号数】公開・登録公報2020-005
【出願番号】特願2019-530804(P2019-530804)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　15/85　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　14/47　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　16/00　(2006.01)
Ｃ１２Ｐ　21/02　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　1/22　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　1/18　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　1/20　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/13　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　39/395　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　7/04　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　25/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　21/04　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　19/02　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　29/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　37/06　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　15/85　ＺＮＡＺ
Ｃ０７Ｋ　14/47
Ｃ０７Ｋ　16/00
Ｃ１２Ｐ　21/02　Ｃ
Ｃ０７Ｋ　1/22
Ｃ０７Ｋ　1/18
Ｃ０７Ｋ　1/20
Ｃ１２Ｎ　15/13
Ａ６１Ｋ　39/395　Ｘ
Ａ６１Ｐ　7/04
Ａ６１Ｐ　25/00
Ａ６１Ｐ　21/04
Ａ６１Ｐ　19/02
Ａ６１Ｐ　29/00　１０１
Ａ６１Ｐ　37/06

【誤訳訂正書】
【提出日】令和2年11月27日(2020.11.27)
【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】

組み換え生成されたＧＬ－２０４５ホモ二量体を含む組成物であって、前記ホモ二量体が、前記組成物全体の２０％未満を構成する、組み換え生成されたＧＬ－２０４５組成物。

【請求項２】

組み換え生成されたＧＬ－２０４５ホモ二量体と、組み換え生成されたＧＬ－２０４５多量体とを含む組成物であって、

前記ＧＬ－２０４５ホモ二量体が、前記組成物全体の２０％未満を構成し、前記ＧＬ－２０４５多量体が、

（ａ）前記組成物全体の少なくとも約２８％を構成する前記ホモ二量体の五量体以上、

（ｂ）前記組成物全体の約７％～約１３％を構成する前記ホモ二量体の二量体、

（ｃ）前記組成物全体の約５．５％～約１１％を構成する前記ホモ二量体の三量体、

（ｄ）前記組成物全体の１０％～約１６％を構成する前記ホモ二量体の四量体、

（ｅ）前記組成物全体の約６％～約１０％を構成する前記ホモ二量体の五量体、

（ｆ）前記組成物全体の約１０％～約１４％を構成する前記ホモ二量体の六量体、

（ｇ）前記組成物全体の約３９％～約６１％を構成する前記ホモ二量体の前記二量体～前記ホモ二量体の前記六量体、

（ｈ）前記組成物全体の約３２％～約５０％を構成する前記ホモ二量体の前記三量体～前記ホモ二量体の前記六量体、

（ｉ）前記組成物全体の約２６％～約３９％を構成する前記ホモ二量体の前記四量体～前記ホモ二量体の前記六量体、

（ｊ）前記組成物全体の約１６％～約２３％を構成する前記ホモ二量体の前記五量体～前記ホモ二量体の前記六量体、または

（ｋ）（ａ）～（ｊ）の任意の組み合わせ、を含む、組成物。

【請求項３】

組み換え生成されたＧＬ－２０４５ホモ二量体と、組み換え生成されたＧＬ－２０４５多量体とを含む組成物であって、

前記ＧＬ－２０４５ホモ二量体が、前記組成物全体の２０％未満を構成し、前記ＧＬ－２０４５多量体が、

（ａ）前記組成物全体の少なくとも約２８％を構成する前記ホモ二量体の五量体以上、

（ｂ）前記組成物全体の約７％～約１３％を構成する前記ホモ二量体の二量体、

（ｃ）前記組成物全体の約５．５％～約１１％を構成する前記ホモ二量体の三量体、

（ｄ）前記組成物全体の１０％～約１６％を構成する前記ホモ二量体の四量体、

（ｅ）前記組成物全体の約６％～約１０％を構成する前記ホモ二量体の五量体、及び

（ｆ）前記組成物全体の約１０％～約１４％を構成する前記ホモ二量体の六量体、を含む、組成物。

【請求項４】

組み換え生成されたＧＬ－２０４５ホモ二量体と、組み換え生成されたＧＬ－２０４５多量体とを含む組成物であって、

前記ＧＬ－２０４５ホモ二量体が、前記組成物全体の２０％未満を構成し、前記ＧＬ－２０４５多量体が、

（ａ）前記組成物全体の少なくとも約２８％を構成する前記ホモ二量体の五量体以上、

（ｂ）前記組成物全体の約３９％～約６１％を構成する前記ホモ二量体の前記二量体～前記ホモ二量体の前記六量体、

（ｃ）前記組成物全体の約３２％～約５０％を構成する前記ホモ二量体の前記三量体～前記ホモ二量体の前記六量体、

（ｄ）前記組成物全体の約２６％～約３９％を構成する前記ホモ二量体の前記四量体～前記ホモ二量体の前記六量体、及び

（ｅ）前記組成物全体の約１６％～約２３％を構成する前記ホモ二量体の前記五量体～前記ホモ二量体の前記六量体、を含む、組成物。

【請求項５】

請求項２に記載の組成物を用いて、治療または予防が必要な対象における炎症性、自己免疫、または感染性疾患または障害を治療または予防する方法。
【請求項６】
ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を含む組成物を生成するための方法であって、前記ホモ二量体が、配列番号４のアミノ酸２１～２６４をそれぞれ含む２つの単量体を含み、前記方法が
（ａ）配列番号４をコードする核酸配列を含む発現ベクターで安定的にトランスフェクトされたチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞を、前記ＣＨＯ細胞が約５００万～約３０００万細胞／ｍＬの細胞密度に到達するまで、３７℃±１℃で培養することと、
（ｂ）成長温度を３７℃±１℃から３２．５℃±１℃にシフトさせることと、
（ｃ）前記培地から前記ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を採取することと、を含む、方法。
【請求項７】
前記細胞が、
（ａ）前記成長温度のシフト前に、約１０００万～約２５００万細胞／ｍＬの密度、
（ｂ）前記成長温度のシフト前に、約１０００万～約１５００万細胞／ｍＬの密度、又は
（ｃ）前記成長温度のシフト前に、約１５００万～約２０００万細胞／ｍＬの密度、
まで成長される、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記培養が、ＡｃｔｉＣＨＯ　Ｐ基礎培地中、又はＡｃｔｉＣＨＯ　Ｐと実質的に同じ構成物質を有する基礎培地中実施され、前記ＣＨＯ細胞が、培養中、ハイクローン　Ｃｅｌｌ　Ｂｏｏｓｔ　７ａ及びハイクローン　Ｃｅｌｌ　Ｂｏｏｓｔ　７ｂを与えられる、請求項６に記載の方法。
【請求項９】
前記配列番号４をコードする核酸配列を含む発現ベクターが、配列番号１のリーダーペプチドをコードする核酸配列を含む、請求項６に記載の方法。
【請求項１０】
前記配列番号４をコードする核酸配列を含む発現ベクターが、ｐｉｇｇｙＢａｃトランスポゼース認識配列をさらに含み、かつｐｉｇｇｙＢａｃトランスポゼースをコードするベクターでトランスフェクトされる、請求項６に記載の方法。
【請求項１１】
前記配列番号４をコードする核酸配列を含む発現ベクターが、２０個未満のゲノム挿入を生じる、請求項６に記載の方法。
【請求項１２】
請求項６に記載の方法によって生成された、組み換え生成された、ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を含む組成物。
【請求項１３】
配列番号４をコードする核酸を含む発現カセットを含む、発現ベクターであって、前記発現カセットが、ｐｉｇｇｙＢａｃ最小逆方向反復要素に隣接している、発現ベクター。
【請求項１４】
ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を含む組成物を生成するための方法であって、前記ホモ二量体が、配列番号４のアミノ酸２１～２６４をそれぞれ含む２つの単量体を含み、前記方法が
（ａ）チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞を、配列番号４をコードする核酸を含む発現ベクターでトランスフェクトすることと、
（ｂ）３７℃±１°の成長温度で、ＡｃｔｉＣＨＯ　Ｐ培地又はＡｃｔｉ　Ｐｒｏ培地を用いて生物反応器中で（ａ）からの前記ＣＨＯ細胞を培養することと、
（ｃ）前記培養物が約１０００万～約１５００万細胞／ｍＬの細胞密度に到達するまで、３７℃±１℃の成長温度で、ハイクローン　Ｃｅｌｌ　Ｂｏｏｓｔ　７ａおよびハイクローン　Ｃｅｌｌ　Ｂｏｏｓｔ　７ｂを（ｂ）からの培養物に毎日与えることと、

（ｄ）前記成長温度を３７℃±１℃から３２．５℃±１℃にシフトさせることと、
（ｅ）前記培地から前記ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を採取することと、を含み、前記方法が、＞３ｇ／Ｌの最終タンパク質力価であって、そのうちの＞７０％が前記ホモ二量体の多量体として存在する、最終タンパク質力価を生じ、前記ホモ二量体の多量体の＞２８％が前記ホモ二量体の五量体以上である、方法。
【請求項１５】
前記細胞生存率が、培養の１０日目、１１日目、１２日目、１３日目、１４日目又はそれ以降に８５％を超える、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記組成物の８０％超が前記ホモ二量体の多量体を構成する、請求項１４に記載の方法。
【請求項１７】
請求項６に記載の方法によって生成されたホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を精製する方法であって、
（ａ）親和性クロマトグラフィによって前記培養上清からホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を精製することと、
（ｂ）陽イオン交換クロマトグラフィ、陰イオン交換クロマトグラフィ、および疎水性相互作用クロマトグラフィのうちの１つ以上によってホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体をポリッシュすることと、
を含む、方法。
【請求項１８】
前記親和性クロマトグラフィが、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅタンパク質Ａカラムを使用する、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
親和性クロマトグラフィによる精製が、前記親和性クロマトグラフィカラムからホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を溶出させることを含む、請求項１７に記載の方法。
【請求項２０】
前記タンパク質Ａカラムが、少なくとも０．５ＭのＮａＯＨ緩衝液を用いて再生される、請求項１８に記載の方法。
【請求項２１】
ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体のポリッシュが、クロマトグラフィを通した陰イオン交換流を含む、請求項１７に記載の方法。
【請求項２２】
クロマトグラフィを通した陰イオン交換流が、Ｑ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ速流カラムを使用することを含む、請求項２１に記載の方法。
【請求項２３】
ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体のポリッシュが、陽イオン交換クロマトグラフィを含む、請求項１７に記載の方法。
【請求項２４】
陽イオン交換クロマトグラフィが、ＰＯＲＯＳ　ＸＳカラムを使用することを含む、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
陽イオン交換クロマトグラフィが、酢酸ナトリウム溶出緩衝液を使用することを含む、請求項２３に記載の方法。
【請求項２６】
前記溶出緩衝液が、３６．５～３８．５％の１ＭのＮａＣｌ緩衝液をさらに含む、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体のポリッシュが、疎水性相互作用クロマ

トグラフィを含む、請求項１７～２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２８】
疎水性相互作用クロマトグラフィが、ブチルＦＦ樹脂又はフェニルＨＰ樹脂を使用することを含む、請求項２７に記載の方法。
【請求項２９】
ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を精製及びポリッシュするための方法であって、前記ホモ二量体が、配列番号４のアミノ酸２１～２６４をそれぞれ含む２つの単量体を含み、前記方法が
（ａ）タンパク質Ａ親和性クロマトグラフィによって培養上清からホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を精製することと、ここで、前記タンパク質Ａカラムが、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅ樹脂などの耐アルカリ性樹脂を使用し、前記精製が少なくとも２つの洗浄周期で行われる；
（ｂ）陽イオン交換クロマトグラフィによってホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体をポリッシュすることと、ここで、前記陽イオン交換カラムが、ＰＯＲＯＳ　ＸＳなどの高能力の高分離能樹脂を含有し、前記溶出緩衝液が、３６．５～３８．５％の１ＭのＮａＣｌ緩衝液から構成される酢酸ナトリウム緩衝液である
（ｃ）陰イオン交換クロマトグラフィによってホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体をポリッシュすることと、ここで、前記陰イオン交換カラムが、Ｑ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ速流樹脂のような陰イオン交換樹脂を含有する；
（ｄ）疎水性相互作用クロマトグラフィ（ＨＩＣ）によってホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体をポリッシュすることと、ここで、前記ＨＩＣ樹脂が、ブチルＦＦ、フェニルＨＰ、またはオクチルＦＦ樹脂であり、かつポリッシュに加えて、ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体の特定の画分を単離または除去するために選択される；を含む、ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を精製及びポリッシュするための方法。
【請求項３０】
前記組成物の最終タンパク質力価が、＞４ｇ／Ｌである、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記組成物が、＞７０％の多量体を含む、請求項２９に記載の方法。
【請求項３２】
請求項２９に記載の方法によって作製された、組み換え生成された精製ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体を含む組成物。
【請求項３３】
炎症性、自己免疫、または感染性疾患または障害を治療または予防するのに使用するための、請求項２９に記載の方法によって生成された、組み換え生成された精製ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体。
【請求項３４】
前記基礎培地がＡｃｔｉＰｒｏである、請求項１９に記載の方法。
【請求項３５】
前記ホモ二量体及び／又は前記ホモ二量体の多量体が、酢酸ナトリウム及びＮａＣｌを含む溶出緩衝液を用いる親和性クロマトグラフィーから溶出される、請求項１９に記載の方法。
【請求項３６】
最終タンパク質力価が＞３ｇ／Ｌ、＞４ｇ／Ｌ、＞５ｇ／Ｌ、＞６ｇ／Ｌ、＞７ｇ／Ｌ、＞８ｇ／Ｌ、又は＞９ｇ／Ｌである、請求項１４に記載の方法。
【誤訳訂正２】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００１６
【訂正方法】変更
【訂正の内容】

【００１６】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される方法によって生成されたＧＬ－２０４５を精製する方法であって、親和性クロマトグラフィによって培養上清からＧＬ－２０４５を精製することと、陽イオン交換クロマトグラフィ、陰イオン交換クロマトグラフィ、および疎水性相互作用クロマトグラフィのうちの１つ以上によってＧＬ－２０４５をポリッシュすることと、を含む、方法を提供する。
【誤訳訂正３】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００１９
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００１９】
いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５のポリッシュは、クロマトグラフィを通した陰イオン交換流を含む。いくつかの実施形態では、クロマトグラフィを通した陰イオン交換流は、Ｑ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ速流カラムを使用することを含む。いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５のポリッシュは、陽イオン交換クロマトグラフィを含む。いくつかの実施形態では、陽イオン交換クロマトグラフィは、ＰＯＲＯＳ　ＸＳカラムを使用することを含む。いくつかの実施形態では、陽イオン交換クロマトグラフィは、酢酸ナトリウム溶出緩衝液を使用することを含む。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液は、３６．５～３９．０％の１ＭのＮａＣｌ緩衝液をさらに含む。一実施形態では、溶出方法は、段階溶出であり、別の実施形態では、溶出は、勾配溶出である。いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５のポリッシュは、疎水性相互作用クロマトグラフィを含む。いくつかの実施形態では、疎水性相互作用クロマトグラフィは、ブチルＦＦ樹脂を使用することを含む。いくつかの実施形態では、疎水性相互作用クロマトグラフィは、フェニルＨＰ樹脂を使用することを含む。いくつかの実施形態では、疎水性相互作用クロマトグラフィ（「ＨＩＣ」）は、フェニルセファロース６速流高サブ樹脂を使用することを含む。一実施形態では、ＨＩＣ方法は、フロースルーモードにあり、別の実施形態では、ＨＩＣ方法は、結合モードにある。いくつかの実施形態では、ＨＩＣ樹脂は、ＧＬ－２０４５ホモ二量体の単離を生じる。いくつかの実施形態では、疎水性相互作用クロマトグラフィは、オクチルＦＦ樹脂を使用することを含む。いくつかの実施形態では、カラムは、ＧＬ－２０４５の非秩序凝集体の除去を生じる。
【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】
いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５を精製するための方法であって、陽イオン交換クロマトグラフィによってＧＬ－２０４５をポリッシュすることを含み、陽イオン交換カラムが、ＰＯＲＯＳ　ＸＳなどの高能力の高分離能樹脂を含有し、溶出緩衝液が、３６．５～３９．０％の１ＭのＮａＣｌ緩衝液から構成される酢酸ナトリウム緩衝液である、ＧＬ－２０４５を精製するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５を精製するための方法は、陰イオン交換クロマトグラフィによってＧＬ－２０４５をポリッシュすることをさらに含み、陰イオン交換カラムは、高い化学的安定性を有し、Ｑ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ速流培地のような定置洗浄および衛生プロトコルを可能にする、強陰イオン交換培地を含有する。いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５を精製するための方法は、疎水性相互作用クロマトグラフィによってＧＬ－２０４５をポリッシュすることをさらに含み、疎水性相互作用培地は、ブチルＦＦ、フェニルＨＰ、またはオクチルＦＦ樹脂であり、かつポリッシュに加えて、ＧＬ－２０４５の特定の画分を単離または除去するために選択される。いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５を精製および／または

ポリッシュするための方法は、全ての濾過およびクロマトグラフィ工程の後に（すなわち、最終医薬物質）、＞４ｇ／ＬのＧＬ－２０４５の最終タンパク質力価を生じる。いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５の最終タンパク質組成物は、＞７０％の多量体を含む。いくつかの実施形態では、多量体の＞２８％は、分析的ＳＥＣ－ＨＰＬＣによって分析されるようなさらに高次の多量体である。
【誤訳訂正５】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００３３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００３３】
【図１Ａ】サイズ排除クロマトグラフィによるＧＬ－２０４５分画（図１Ａ）および非還元ゲルによる結果として生じる画分の分析（図１Ｂ）を例示する。
【図１Ｂ】サイズ排除クロマトグラフィによるＧＬ－２０４５分画（図１Ａ）および非還元ゲルによる結果として生じる画分の分析（図１Ｂ）を例示する。
【図２】ＧＬ－２０４５画分の生体層干渉法分析を例示する。
【図３Ａ】ＧＬ－２０４５についてのゲル分析（図３Ａ）およびサイズ排除分画結果（図３Ｂ）を例示する。
【図３Ｂ】ＧＬ－２０４５についてのゲル分析（図３Ａ）およびサイズ排除分画結果（図３Ｂ）を例示する。
【図４Ａ】補体依存性細胞致死アッセイにおけるＧＬ－２０４５画分の効果を例示する。
【図４Ｂ】補体依存性細胞致死アッセイにおけるＧＬ－２０４５画分の効果を例示する。
【図４Ｃ】補体依存性細胞致死アッセイにおけるＧＬ－２０４５画分の効果を例示する。
【図４Ｄ】補体依存性細胞致死アッセイにおけるＧＬ－２０４５画分の効果を例示する。
【図５Ａ】溶出クロマトグラム（図５Ａ）およびＦｃγＲＩＩＩａ結合アッセイにおいて使用するためのＧＬ－２０４５のＳＤＳ－Ｐａｇｅ分析（図５Ｂおよび５Ｃ）を例示する。
【図５Ｂ】溶出クロマトグラム（図５Ａ）およびＦｃγＲＩＩＩａ結合アッセイにおいて使用するためのＧＬ－２０４５のＳＤＳ－Ｐａｇｅ分析（図５Ｂおよび５Ｃ）を例示する。
【図５Ｃ】溶出クロマトグラム（図５Ａ）およびＦｃγＲＩＩＩａ結合アッセイにおいて使用するためのＧＬ－２０４５のＳＤＳ－Ｐａｇｅ分析（図５Ｂおよび５Ｃ）を例示する。
【図６Ａ】図５に示される溶出された画分のＦｃγＲＩＩＩａへの結合（図６Ａ）および最良適合曲線（図６Ｂ）を例示する。
【図６Ｂ】図５に示される溶出された画分のＦｃγＲＩＩＩａへの結合（図６Ａ）および最良適合曲線（図６Ｂ）を例示する。
【図７】陰イオン交換画分のＳＤＳ－Ｐａｇｅ分析を例示する：ＧＬ－ＧＬＭ－０１＝組み換え、非分画Ｆｃ（Ｇ００１）、ＧＬ－ＧＬＭ－０２＝非分画ＧＬ－２０４５、ＧＬ－ＧＬＭ－０５＝ｐＨ６．０での分画ＧＬ－２０４５、ＧＬ－ＧＬＭ－０６＝ｐＨ６．５での分画ＧＬ－２０４５、ＧＬ－ＧＬＭ－０７＝ｐＨ７．０での分画ＧＬ－２０４５、ＧＬ－ＧＬＭ－０８＝ｐＨ７．５での分画ＧＬ－２０４５。
【図８】分画ＧＬ－２０４５の非分画の存在下での化学誘引物質としてＣ５ａを用いた好中球走化性アッセイの結果を例示する：ＧＬ－ＧＬＭ－０１＝組み換え、非分画Ｆｃ（Ｇ００１）、ＧＬ－ＧＬＭ－０２＝非分画ＧＬ－２０４５、ＧＬ－ＧＬＭ－０５＝ｐＨ６．０での分画ＧＬ－２０４５、ＧＬ－ＧＬＭ－０６＝ｐＨ６．５での分画ＧＬ－２０４５、ＧＬ－ＧＬＭ－０７＝ｐＨ７．０での分画ＧＬ－２０４５、ＧＬ－ＧＬＭ－０８＝ｐＨ７．５での分画ＧＬ－２０４５。
【図９】培養の４、８、および１０日目の、異なる培地のパネルにおいて成長されたＣＨＯ細胞の細胞密度（１００万／ｍＬ単位で）を例示する。

【図１０】培養の４、８、および１０日目の、異なる培地のパネルにおいて成長されたＣＨＯ細胞の細胞生存率（％）を例示する。
【図１１】培養の１０日目の、異なる培地のパネルにおいて成長されたＣＨＯ細胞のタンパク質力価（ｍｇ／ｍＬ）を例示する。
【図１２Ａ】図９～１１に例示される培地のパネル中に成長されたＣＨＯ細胞から生成されたＧＬ－２０４５タンパク質のゲル分析を例示する。
【図１２Ｂ】図９～１１に例示される培地のパネル中に成長されたＣＨＯ細胞から生成されたＧＬ－２０４５タンパク質のゲル分析を例示する。
【図１３Ａ】ＰｏｗｅｒＣＨＯ３　ＣＤ、ＡＤＣＦ－Ｍａｂ　Ｈｙｃｌｏｎｅ、およびＡｃｔｉＣＨＯ　Ｐ培地についての給餌スケジュール（図１３Ａ）、ならびにＣｅｌｌｖｅｎｔｏ、ＢａｌａｎＣＤ　ＣＨＯ　Ｇｒｏｗｔｈ　Ａ、ＣＤ　ＦｏｒｔｉＣＨＯ　Ｌｉｆｅ、およびＣＤ４ＭＣＨＯ　Ｈｙｃｌｏｎｅ培地（図１３Ｂ）についての給餌スケジュールを例示する。
【図１３Ｂ】ＰｏｗｅｒＣＨＯ３　ＣＤ、ＡＤＣＦ－Ｍａｂ　Ｈｙｃｌｏｎｅ、およびＡｃｔｉＣＨＯ　Ｐ培地についての給餌スケジュール（図１３Ａ）、ならびにＣｅｌｌｖｅｎｔｏ、ＢａｌａｎＣＤ　ＣＨＯ　Ｇｒｏｗｔｈ　Ａ、ＣＤ　ＦｏｒｔｉＣＨＯ　Ｌｉｆｅ、およびＣＤ４ＭＣＨＯ　Ｈｙｃｌｏｎｅ培地（図１３Ｂ）についての給餌スケジュールを例示する。
【図１４】培養の０～１１日目の、異なる培地＋給餌の組み合わせのパネルにおいて成長されたＣＨＯ細胞の細胞密度（ｅ６細胞／ｍＬ）を例示する。
【図１５】培養の０～１１日目の、異なる培地＋給餌の組み合わせのパネルにおいて成長されたＣＨＯ細胞の細胞生存率（％）を例示する。
【図１６】培養の０～１１日目の、異なる培地＋給餌の組み合わせのパネルにおいて成長されたＣＨＯ細胞からのＧＬ－２０４５のタンパク質力価（ｍｇ／ｍＬ）を例示する。
【図１７】ＧＬ－２０４５多量体化に関する図１３Ａ～１３Ｂに例示される培地＋給餌の組み合わせおよびスケジュールの効果のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を例示する。
【図１８Ａ】細胞密度（図１８Ａ）、細胞生存率（図１８Ｂ）、培養物ｐＨ（図１８Ｃ）、およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図１８Ｄ）に関する、毎日のＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（赤色）、ならびに１日おきのＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（青色）の効果を例示する。
【図１８Ｂ】細胞密度（図１８Ａ）、細胞生存率（図１８Ｂ）、培養物ｐＨ（図１８Ｃ）、およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図１８Ｄ）に関する、毎日のＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（赤色）、ならびに１日おきのＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（青色）の効果を例示する。
【図１８Ｃ】細胞密度（図１８Ａ）、細胞生存率（図１８Ｂ）、培養物ｐＨ（図１８Ｃ）、およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図１８Ｄ）に関する、毎日のＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（赤色）、ならびに１日おきのＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（青色）の効果を例示する。
【図１８Ｄ】細胞密度（図１８Ａ）、細胞生存率（図１８Ｂ）、培養物ｐＨ（図１８Ｃ）、およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図１８Ｄ）に関する、毎日のＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（赤色）、ならびに１日おきのＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（青色）の効果を例示する。
【図１９】ＧＬ－２０４５タンパク質力価に関する、毎日のＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（赤色）、および３日おきのＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ培地＋給餌（青色）の効果を例示する。
【図２０Ａ】ＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ基礎培地を用いたＡｃｔｉＣＨＯ餌料Ａ（青色）の使用と比較した、細胞生存率（図２０Ａ）およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図２０Ｂ）に関してＰｏｗｅｒＣＨＯ２（赤色）基礎培地とＡｃｔｉＣＨＯ餌料Ａを組み合わせる効果を例示する。
【図２０Ｂ】ＡｃｔｉＣＨＯ－Ｐ基礎培地を用いたＡｃｔｉＣＨＯ餌料Ａ（青色）の使用

と比較した、細胞生存率（図２０Ａ）およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図２０Ｂ）に関してＰｏｗｅｒＣＨＯ２（赤色）基礎培地とＡｃｔｉＣＨＯ餌料Ａを組み合わせる効果を例示する。
【図２１Ａ】細胞密度（図２１Ａ）、細胞生存率（図２１Ｂ）、およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図２１Ｃ）に関する最適化された振とうフラスコ状態の効果を例示する。
【図２１Ｂ】細胞密度（図２１Ａ）、細胞生存率（図２１Ｂ）、およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図２１Ｃ）に関する最適化された振とうフラスコ状態の効果を例示する。
【図２１Ｃ】細胞密度（図２１Ａ）、細胞生存率（図２１Ｂ）、およびＧＬ－２０４５タンパク質力価（図２１Ｃ）に関する最適化された振とうフラスコ状態の効果を例示する。
【図２２】タンパク質Ａ精製ＧＬ－２０４５のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を例示する。
【図２３Ａ】ｐＨ勾配溶出によるＧＬ－２０４５の溶出後のタンパク質Ａカラムからの溶出プロファイル（図２３Ａ）および単離された画分のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析（図２３Ｂ）を例示する。
【図２３Ｂ】ｐＨ勾配溶出によるＧＬ－２０４５の溶出後のタンパク質Ａカラムからの溶出プロファイル（図２３Ａ）および単離された画分のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析（図２３Ｂ）を例示する。
【図２４】溶出クロマトグラムおよび非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を例示する。
【図２５】溶出クロマトグラムおよび非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を例示する。
【図２６】ランＣ１～Ｃ３の溶出クロマトグラフを例示する。
【図２７】ランＣ１～Ｃ３からの溶出ピーク３８％～３９％の非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を例示する。
【図２８】イオンクロマトグラフィ精製ＧＬ－２０４５の濃度測定法分析を例示する。
【図２９Ａ】ＨＩＣカラムの溶出プロファイル（上パネル）ならびに溶出およびフロースルー画分（ＦＴ）のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析（下パネル）を例示する。
【図２９Ｂ】ＨＩＣカラムの溶出プロファイル（上パネル）ならびに溶出およびフロースルー画分（ＦＴ）のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析（下パネル）を例示する。
【図３０】Ｍ０４５のＨＩＣカラムポリッシュからの溶出プロファイル（右パネル）およびＮｕ－ＰＡＧＥ分析（右パネル）を例示する。
【図３１】Ｍ０４５のＨＩＣカラムポリッシュからの溶出プロファイルを例示する。
【図３２】Ｍ０４５のＨＩＣカラムポリッシュからの溶出プロファイルおよびＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を例示する。
【図３３】最適に製造されたＧＬ－２０４５組成物の定義された多量体パターンを例示する。
【誤訳訂正６】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００５９
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００５９】
疎水性相互作用（ＨＩＣ）カラムは、高収率捕捉、モノクローナル抗体のポリッシュ、全長形態からの長さの小さい種の除去、不活性形態からの活性形態の分離、およびウィルスの一掃を含む、様々な機構を通してモノクローナル抗体およびＦｃ融合タンパク質を精製するために、当該技術分野で一般的に使用されている。しかしながら、ＧＬ－２０４５の文脈で使用される場合、本発明者らは、標準的なＨＩＣカラムが予測不能であることを見出した。実施例１４に実証されるように、異なるマトリックスから構成される７ＨＩＣカラムは、同じ上清および同じ緩衝液が全てのカラムと共に使用されているにもかかわらず、１６％～６２％の範囲の大きく異なった捕捉率に関連付けられる。
【誤訳訂正７】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００６０

【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００６０】
さらに、本発明者らは、緩衝液の変化が、ＧＬ－２０４５の多量体化プロファイルを変化させ得ることを予測する。これは、緩衝液の変化が、少量のタンパク質の損失またはより不完全なポリッシュを生じるが、薬物の根本的な組成物には変化をもたらさないであろう、モノクローナル抗体もしくはＦｃ融合タンパク質とは全く対照的である。
【誤訳訂正８】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００６１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００６１】
さらに、本発明者らは、ＧＬ－２０４５ホモ二量体は、高秩序多量体を形成させるＩｇＧ１　Ｆｃおよび多量体化ドメインから構成されるため、ＧＬ－２０４５は、天然のＩｇＧ１　Ｆｃホモ二量体への結合力を有さずに結合する、全てのまたはほぼ全ての多くのリガンドおよび標的に貪欲に結合することを発見した。これは、驚くべきことに、全ての低親和性Ｆｃ受容体および補体Ｃ１ｑ、ならびに精製カラムにおいて一般的に使用されるタンパク質ＡおよびタンパクＧを含む。しかしながら、この貪欲な結合はまた、より望ましくない潜在的な標的結合、例えば、エンドトキシンも生じる。この理由のために、本発明者らは、タンパク質ＡによるＧＬ－２０４５の精製、ならびに少なくとも１つ以上の陽イオン交換クロマトグラフィ、陰イオン交換フロースルー、および疎水性相互作用カラムによるタンパク質Ａ精製ＧＬ－２０４５のポリッシュを含む、複数の工程の精製プロセスが望ましいと判定した。好ましい実施形態では、タンパク質ＡによるＧＬ－２０４５の精製、ならびに結合モードにおける陽イオン交換クロマトグラフィ、フロースルーモードにおける陰イオン交換、および結合モードもしくはフロースルーモードのいずれかにおける疎水性相互作用カラムの３つ全てによるタンパク質Ａ精製ＧＬ－２０４５のポリッシュを含む、４工程の精製プロセスが望ましい。この４工程の精製プロセスは、実施例１５に概説されている。当業者であれば、ＧＬ－２０４５組成物をさらに精製するための実施例１５に記載されるプロセスの前、中、または後の任意の時点で、深層濾過および超濾過工程を含む追加の濾過工程を追加することができることを容易に理解するであろう。
【誤訳訂正９】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００７１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００７１】
いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５の最適化された下流製造方法は、親和性クロマトグラフィ（例えば、タンパク質Ａ親和性クロマトグラフィ）による精製、ならびに陽イオン交換クロマトグラフィ、陰イオン交換クロマトグラフィ、および疎水性相互作用カラムから選択される少なくとも１つ以上のポリッシュ工程を含む、複数の工程の精製プロセスを含む。好ましい実施形態では、親和性クロマトグラフィ（例えば、タンパク質Ａ親和性クロマトグラフィ）による精製、ならびに陽イオン交換クロマトグラフィ、陰イオン交換クロマトグラフィ、および疎水性相互作用カラムの各々によるポリッシュを含む、当該技術分野で一般的に実践される２つまたは３つの工程の精製プロセスの代わりに、ＧＬ－２０４５に対する４工程の精製プロセスが使用される。「ポリッシュ」という用語は、古典的に、凝集体、エンドトキシン、ＤＮＡ、および／またはウィルスを含む、残りの不純物のタンパク質Ａ精製後の除去を指す。加えて、ＧＬ－２０４５に関しては、「ポリッシュ」とは、さらに、これらの同じクロマトグラフィ技術の使用を通してなど、ホモ二量体および特定のさらに高次の多量体の割合を制御することを意味する。

【誤訳訂正１０】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００７２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００７２】
いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５は、イオン交換クロマトグラフィ（例えば、陽イオンまたは陰イオン交換）によってポリッシュされる。いくつかの実施形態では、イオン交換クロマトグラフィによるＧＬ－２０４５のポリッシュは、タンパク質Ａ精製後のプロセス中に保持されるＧＬ－２０４５ホモ二量体の無秩序高分子量凝集体の量を低減および／または最小にする溶出緩衝液を用いて行われる。いくつかの実施形態では、タンパク質ＡカラムからＧＬ－２０４５を溶出させるために、段階溶出が行われる。いくつかの実施形態では、タンパク質ＡカラムからＧＬ－２０４５を溶出させるために、勾配溶出が行われる。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液は、酢酸ナトリウム緩衝液である。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液中の酢酸ナトリウムの濃度は、少なくとも２５ｍＭである。例えば、溶出緩衝液中の酢酸ナトリウムの濃度は、少なくとも３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、７５、１００ｍＭ以上の酢酸ナトリウムであり得る。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液は、５０ｍＭの酢酸ナトリウムである。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液は、可変量の追加の塩緩衝液（例えば、ＮａＣｌ緩衝液）の添加を含む５０ｍＭの酢酸ナトリウムである。いくつかの実施形態では、追加の緩衝液は、１ＭのＮａＣｌ、ｐＨ５の緩衝液（「緩衝液ｂ」）である。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液は、少なくとも３０％の緩衝液Ｂを含む。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液は、３０％～４０％の緩衝液Ｂを含む。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液は、３５％～４０％の緩衝液Ｂを含む。またさらなる実施形態では、溶出緩衝液は、３７％～３９％の緩衝液Ｂを含む。いくつかの実施形態では、溶出緩衝液は、３８％＋／－０．５％の緩衝液ｂを含む。
【誤訳訂正１１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００７３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００７３】
いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５は、疎水性相互作用クロマトグラフィ（ＨＩＣ）を使用してポリッシュされる。いくつかの実施形態では、ＧＬ－２０４５の高分子量無秩序凝集体を除去するために、ＨＩＣカラム（例えば、オクチルＦＦ　ＨＩＣカラム）が選択される。ＨＩＣカラムを用いてＧＬ－２０４５を精製するために、フロースルーモードまたは結合モードのいずれかを行うことができる。当業者は、ｐＨ条件および塩条件などの変数を調製することで、ＧＬ－２０４５がＨＩＣ樹脂に結合するか、またはカラムを通して流動するかが判定されるであろうと理解している。いくつかの実施形態では、ホモ二量体および／またはさらに高次の多量体（例えば、ブチルＨＰおよび／またはフェニルＨＰ
カラム）などのＧＬ－２０４５の特定の画分を精製するために、ＨＩＣカラムが選択される。いくつかの実施形態では、特定の疾患の兆候の治療のために、ＧＬ－２０４５の特定の画分を単離することが望ましい場合がある。例えば、特定のＧＬ－２０４５画分から構成される医薬物質（例えば、主にＧＬ－２０４５ホモ二量体から構成される医薬物質、主にホモ二量体の二量体から構成される医薬物質、ＧＬ－２０４５のより高秩序の多量体から構成される医薬物質など）を発生させるために、ＨＩＣカラムを使用し得る。ＧＬ－２０４５画分の、別個の生成物への分離は、特定の疾患の兆候に対して有益であり得る。例えば、ＧＬ－２０４５ホモ二量体は、ＦｃγＲＩに結合するが、実質的には、他のＦｃＲに結合する。このように、ＧＬ－２０４５ホモ二量体は、少なくとも部分的に、腹膜炎（

Ｈｅｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ，Ｖ．１６２，１９９２）または急性肺損傷（Ｘｉｅ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，Ｖ １８８，２０１２）などを信号伝達するＦｃγＲＩによって媒介される疾患の治療に特に有用であり得る。同様に、ＧＬ－２０４５の三量体、潜在的に、二量体および四量体は、自己免疫疾患を治療するために特に有用であり得る（ＷＯ２０１５／１６８６４３を参照のこと）。Ｃ１ｑは六量体であるので、五量体、六量体、および七量体は、補体媒介疾患の治療に特に有用であり得る。当業者であれば、これらは、ＧＬ－２０４５画分が特定の疾患を治療するのに有益であり得る方法のうちの単なるいくつかであることを認識するであろう。

【誤訳訂正１２】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００７４
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００７４】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される最適化された下流製造方法は、個々の精製および／または濾過技術の組み合わせであり得る。例えば、いくつかの実施形態では、最適化された下流方法は、親和性クロマトグラフィによるＧＬ－２０４５の精製（例えば、タンパク質Ａカラムについての最適化方法による精製）、引き続きイオン交換クロマトグラフィ方法による追加のポリッシュ（例えば、最適化された陽イオン交換方法によるポリッシュ）、および／または疎水性相互作用カラムを含み得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される最適化された下流方法は、タンパク質Ａ、陽イオン交換、陰イオン交換フロースルー、および疎水性相互作用カラムによる精製を含む、４工程の精製プロセスを含む。いくつかの実施形態では、追加の深層濾過および／または超濾過工程も、使用され得る。

【誤訳訂正１３】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０１５２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０１５２】
実施例３－ＦｃγＲＩＩＩａへのＧＬ－２０４５画分の結合
ＦｃγＲＩＩＩａへのＧＬ－２０４５画分の結合を判定した。ＧＬ－２０４５の上清を、２０ｍＭのリン酸ナトリウム、ｐＨ７．２の０．１５ＭのＮａＣｌの結合緩衝液を用いたタンパク質Ａ ＨｉＴｒａｐ ＭａｂＳｅｌｅｃｔ Ｓｕｒｅ（ＧＥ＃１１－００３４－９５）を有する親和性クロマトグラフィによって精製し、ｐＨ２．７の０．１Ｍのグリシンを用いて溶出した（図５Ａ）。親和性クロマトグラフィ－精製ＧＬ－２０４５を、ｐＨ７．２の１Ｘ ＰＢＳ（Ｑｕａｌｉｔｙ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ，Ｉｎｃ ＃１１９－０６９－１０１）中に保存した。精製ＧＬ－２０４５のプールを、ｐＨ５．０の５０ｍＭの酢酸ナトリウムに対してさらに透析し、かつｐＨ５．０の５０ｍＭの酢酸ナトリウムの結合緩衝液を用いたＰＯＲＯＳ ＣＩＥＸカラム（１．２ｃｍＤ×１０ｃｍＬのＧＯＰＵＲＥカラム、Ｐｏｒｏｓ ＸＳ、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、＃４４４８８８５）に対する陽イオン交換クロマトグラフィ、および５０ｍＭの酢酸ナトリウム、ｐＨ５．０の１ＭのＮａＣｌを用いた溶出勾配（０～１００％の溶出緩衝液）によってポリッシュした。このポリッシュ工程を、最終画分から最高次の多量体および／または非秩序凝集体を取り除くことなく行った。最終工程として、ＣＩＥＸポリッシュされたＧＬ－２０４５を、≦５ｍＬの体積まで濃縮し、緩衝液を、ゲル濾過ランニング緩衝液に対して交換し、かつ０．０５ＭのＴｒｉｓ－ＨＣＬ＋ｐＨ７．５の０．１５ＭのＮａＣｌを実験緩衝液（Ｔｒｉｓ ＨＣＬ、ｐＨ７．５ Ｔｅｋｎｏｖａ ＃Ｔ１０７５）として使用して、ゲル濾過カラム（Ｈｉｌｏａｄ ２６／６０ Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００ｐｇ（ＧＥ ＃１７－１０７１－０１））中に注入した。次に、ゲル分析によって、多量体化について画分

を分析した（図５Ｂおよび図５Ｃ）。
【誤訳訂正１４】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０１８８
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０１８８】
実施例１１－イオン交換カラム塩およびｐＨ条件が、ＧＬ－２０４５多量体組成物を変性させる
ＧＬ－２０４５の精製のための重要な目標は、最終精製生成物の多量体組成物の厳格な制御である。イオン交換カラム（例えば、陽イオンと陰イオンとの交換）は、モノクローナル抗体およびＦｃ融合タンパク質の精製のポリッシュ工程のためにルーチン的に使用される。本発明者らは、異なる濃度の塩を含む溶出緩衝液を用いて、陽イオン交換培地であるＰＯＲＯＳ　ＣＩＥＸ（インビトロゲン　ＧｏＰｕｒｅ　ＸＳ（１０ｍＬ）ｃａｔ＃４４４８８８５）を試験した。第１に、ＧＬ－２０４５を、タンパク質Ａ親和性クロマトグラフィによって精製し、次に、ＣＩＥＸカラムへの装填前に、ｐＨ５．０の５０ｍＭの酢酸ナトリウム中にプールおよび透析した。ｐＨ５の５０ｍＭの酢酸ナトリウムを、平衡および洗浄緩衝液として使用した。添加される可変量の緩衝液Ｂ（図２４に％として示されるｐＨ５の１ＭのＮａＣｌ）を含む５０ｍＭの酢酸ナトリウム溶出緩衝液を用いて、ＧＬ－２０４５のポリッシュに対する溶出緩衝液（ＥＢ）塩含有量の効果を試験した。ＡｋｔａＡｖａｎｔ上でクロマトグラフィランを行った。簡潔に言うと、Ａｖａｎｔ法は、１０カラム体積（ｃｖ）の総体積で、２ｍＬ／分で、ｐＨ５の５０ｍＭの酢酸ナトリウムを用いてＣＩＥＸカラムを平衡化することを含む。ｐＨ５の５０ｍＭの酢酸ナトリウム中に以前に透析された６５～１００ｍｇのＧＬ－２０４５を、カラムに装填した。５ｃｖの結合緩衝液を用いて、２ｍＬ／分で、カラムを洗浄した。次に、多様な百分率のＮａＣｌ（例えば、３０～５０％緩衝液Ｂから構成される溶出緩衝液）を含む９～１５ｃｖの緩衝液を用いて、２ｍＬ／分で、ＧＬ－２０４５を溶出した。
【誤訳訂正１５】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０１９０
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０１９０】
実施例１１に示され、かつ表１３に定量化されるように、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析は、３０％ＥＢ、４０％ＥＢ、または５０％ＥＢの溶出緩衝液により溶出された場合に、ＧＬ－２０４５分子量の種の分離における劇的な差を実証した。９１．７％の材料を、３０～４０％緩衝液ｂを含む溶出緩衝液により溶出し、５０％緩衝液Ｂを含む溶出緩衝液により回復された材料は、高分子量の材料のみであった。これらのデータは、溶出緩衝液の変更が、ＧＬ－２０４５の多量体組成物を実質的に変性させ得ることを実証する。したがって、イオン交換のために選択された溶出緩衝液を使用して、この技術の新規使用であるＧＬ－２０４５の多量体組成物を変性させることができることは明白である。同時に、本発明者らは、ＧＬ－２０４５の組成物中の変化がイオン交換ポリッシュ工程において所望されない場合、精密のレベルは、当業者によって通常実践されない精密さのレベルが、イオン交換ポリッシュ工程において使用するための溶出緩衝液の塩濃度の選択において必要とされることを発見した。
【誤訳訂正１６】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０１９２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】

【０１９２】
ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析は、３５％、３６％、または３７％以上の緩衝液ｂ（それぞれ、３５％ＥＢ、３６％ＥＢ、３７％ＥＢなど）を含む溶出緩衝液により溶出された場合に、ＧＬ－２０４５ホモ二量体の分離において劇的な差を実証した。３５％ＥＢで明確に視認可能なホモ二量体およびホモ二量体の二量体は、対照的に、３６％ＥＢで大きく減少され、３７％ＥＢ以上で完全に取り除かれることに留意されたい（図２５）。同様に、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析は、３５％ＥＢ、３６％ＥＢ、もしくは３７％ＥＢで溶出された場合、またはより高い緩衝液ｂの濃度を有する溶出緩衝液により溶出された場合に、ＧＬ－２０４５の最高次の多量体と大きい無秩序凝集体との分離における劇的な差を実証している。したがって、イオン交換について選択された溶出緩衝液を使用して、この技術の新規使用であるＧＬ－２０４５の多量体プロファイルを変性させることができることは明白である。この段階溶出からのデータは、所望のＧＬ－２０４５プロファイルを得るために、当業者が単一の工程または複数の段階溶出を選択するのに使用することができることも明白である。例えば、ＰＯＲＯＳ　ＣＩＥＸカラムおよび３６．５～３８．５％緩衝液ｂを含む溶出緩衝液を使用したＧＬ－２０４５のポリッシュは、多量体１０を通して全てのホモ二量体、二量体、および多量体を保持し、かつ大きい無秩序凝集体および最高次の多量体を溶出するであろう。異なるカラムを使用する同様の例を実施例４に示す。
【誤訳訂正１７】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２００
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２００】
７つの異なるＨＩＣカラムは、ＧＬ－２０４５の異なる多量体プロファイルを実証した。一例として、ブチルＨＰカラムは、ホモ二量体画分（画分Ａ１０）をＡ１２に見出される多量体分子量の種から分離した。フェニルＨＰカラム（画分Ｂ８と比較した画分Ｂ１１）で、同じ効果が見られた。オクチルＦＦカラムによる溶出画分中に、装填された材料の１６％のみが回復され、これは、それがＧＬ－２０４５のためのフロースルーモードポリッシュ方法に良好に適合され得ることを示している。さらに、オクチルＦＦカラムから溶出された画分は、より高い分子量の種を含有し、これは、カラムが、より低い効力を有する非常に高い分子量のホモ二量体凝集体の種の除去にも良好に適合され得ることを示している。
【誤訳訂正１８】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２０２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２０２】
Ｍ０４５のＨＩＣ精製画分を、ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析して、Ｍ０４５多量体プロファイルに対するＨＩＣカラムのポリッシュの効果を判定した。これらの結果は、疎水性相互作用カラムを使用して、ホモ二量体、二量体、三量体、および多量体画分の明確な分離によって留意される、Ｍ０４５の多量体組成物を変性させることができることをさらに実証した（図３２）。
【誤訳訂正１９】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１２】
（６）イオン交換クロマトグラフィによるＧＬ－２０４５のポリッシュに最適な溶出緩

衝液は、アセテート緩衝液＋３０～４０％緩衝液ｂ、特に３７．５％～３９％＋／０．５％である。

イオン交換クロマトグラフィは、一般に、ｍＡｂ生成中に不純物の薬物をポリッシュするために使用される。しかしながら、本発明者らは、最適な多量体化プロファイルが達成されるように、ＧＬ－２０４５の特定の画分（例えば、ホモ二量体の最高次の多量体および高分子量無秩序凝集体）を取り除くためにイオン交換クロマトグラフィを用いた。具体的には、本発明者らは、３０～４０％緩衝液ｂの溶出緩衝液が、ＧＬ－２０４５の高分子量無秩序凝集体の量を低減することを見出した。さらにより具体的には、３８～３９％緩衝液ｂ
の溶出緩衝液は、具体的には、低減量の無秩序凝集体についても最適化しながら、最終ＧＬ－２０４５生成物中に存在するホモ二量体の量を維持した。

【誤訳訂正２０】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１３】

（７）疎水性相互作用カラム（ＨＩＣ）を用いて、特定のＧＬ－２０４５多量体化プロファイルを達成することができる。

本明細書のデータは、ＧＬ－２０４５を精製するポリッシュ工程において、複数のＨＩＣを使用することができることを実証している。例えば、オクチルＦＦカラムからのフロースルーは、主に高分子量の種を含有し、これは、具体的にはＧＬ－２０４５の高分子量凝集体の除去のためにこのカラムを使用することができることを示している。代替的に、ブチルＨＰカラムを使用して、画分のうちの１つがより望ましい成果を達成し得る用途のための多量体画分から、ホモ二量体画分を分離させることができる。代替的に、結合モードにおいて、ＨＩＣカラムを使用することができる。

【誤訳訂正２１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１７
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１７】

最大高秩序多量体の継代を妨害せず、それによって上清のホモ二量体および多量体プロファイルを保持する、接線流動濾過システムにより培養上清から、ＧＬ－２０４５を採取した。次に、下流製造方法を用いて、ＧＬ－２０４５を単離し、不純物を除去し、かつＧＬ－２０４５の多量体プロファイルを制御するために特定の画分を単離した（例えば、非秩序高分子量凝集体の除去）。タンパク質Ａ親和性クロマトグラフィによって、ＧＬ－２０４５を精製し、高アルカリ性再生に耐える能力のために、タンパク質Ａ培地を選択した。さらに、１つ超の洗浄緩衝液を使用して、精製プロセスにわたるさらなる制御を可能にした。加えて、ＣＩＰ手順は、最終ＧＬ－２０４５組成物中にホモ二量体を保持するのに必要とされるようなタンパク質Ａカラムの結合能を完全に再生させるために、通常よりも頻繁に行われ、かつカラムに貪欲に結合されたＧＬ－２０４５多量体を除去するために０．５ＭのＮａＯＨ緩衝液により行われた。ｐＨ溶出勾配を伴うか、または伴わずに、タンパク質Ａカラムから、ＧＬ－２０４５を溶出した。タンパク質Ａカラムの親和性クロマトグラフィによる精製後、追加のポリッシュ工程を用いた。陽イオン交換クロマトグラフィを使用して、３７～３９％＋／－０．５％緩衝液ｂを含む溶出緩衝液により、好ましくは、ＣＩＥＸ　ＰＯＲＯＳ　ＸＳ樹脂により、ＧＬ－２０４５の高分子量無秩序凝集体を除去した。いくつかの実施形態では、ＨＩＣカラムを使用して、ＧＬ－２０４５をさらに精製した。ＧＬ－２０４５の高分子量無秩序凝集体を除去するために、オクチルＦＦ樹脂を、追加のポリッシュ工程として使用した。代替的に、ブチルＨＰ含有カラムを使用して、

特定のＧＬ－２０４５画分を単離（例えば、さらに高次の多量体を単離）した。加えて、陰イオン交換カラム、具体的にはＱ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ速流カラムを、特にフロースルーモードにおける追加のポリッシュ工程として使用した。