

【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 6 部門第 1 区分

【発行日】平成30年3月22日 (2018.3.22)

【公表番号】特表2017-515099(P2017-515099A)

【公表日】平成29年6月8日 (2017.6.8)

【年通号数】公開・登録公報2017-021

【出願番号】特願2016-555958(P2016-555958)

【国際特許分類】

G 0 1 N 30/88 (2006.01)
 B 0 1 J 20/22 (2006.01)
 B 0 1 J 20/26 (2006.01)
 B 0 1 J 20/28 (2006.01)
 B 0 1 J 20/34 (2006.01)
 B 0 1 D 15/00 (2006.01)
 B 0 1 D 15/38 (2006.01)
 B 0 1 D 15/42 (2006.01)
 C 1 2 N 1/02 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/24 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/70 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 30/88 J
 G 0 1 N 30/88 2 0 1 G
 G 0 1 N 30/88 2 0 1 X
 B 0 1 J 20/22 C
 B 0 1 J 20/26 H
 B 0 1 J 20/28 Z
 B 0 1 J 20/34 G
 B 0 1 D 15/00 K
 B 0 1 D 15/38
 B 0 1 D 15/42
 C 1 2 N 1/02
 C 1 2 Q 1/24
 C 1 2 Q 1/70

【手続補正書】

【提出日】平成30年2月9日 (2018.2.9)

【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】

生物粒子の精製用の分離マトリックスであって、分離マトリックスが、多孔質コア体 (1 0 1) とコア体 (1 0 1) を覆う多孔質シェル体 (1 0 2) とを有する複数の粒子 (1 0 0) を含んでおり、

a) コア体 (1 0 1) が、共有結合で結合したリガンド上に 5 0 マイクロモル / m l 以上の第 1 級アミンを含んでいて、リガンド 1 個当たり 2 個以上の第 1 級アミンを呈し、

b) シェル体 (1 0 2) が 2 0 マイクロモル / m l 未満の第 1 級アミンしか含まない、

分離マトリックス。

【請求項 2】

マトリックスは、 10 mS/cm 以上（ 20 mS/cm 以上等）の導電率を有する水性緩衝液中でマトリックス 1 ml 当たり 20 mg 以上（例えば 40 mg 以上）のオボアルブミンを結合することができる、請求項 1 記載の分離マトリックス。

【請求項 3】

- a) リガンドが第 2 級又は第 3 級アミン結合を介してコア体（ 101 ）に結合する、
- b) リガンドの窒素及び酸素原子含有量が $20\text{ 重量}\%$ 以上である、
- c) 第 1 級アミン窒素の含有量が $18\text{ 重量}\%$ 以上である、
- d) 第 1 級アミンと窒素原子の合計量との比が、 0.5 以上である、
- e) リス（2 - アミノエチル）アミン及びポリアリルアミンからなる群から選択され、アミンを介して結合している、および / または
- f) リガンドが、分子量 1 kDa 以上のポリアリルアミンを含む、選択的にはポリアリルアミンが非架橋型である

請求項 1 又は 2 記載の分離マトリックス。

【請求項 4】

- a) シェル体（ 102 ）が $1 \sim 10\text{ }\mu\text{m}$ の平均厚さを有する、
- b) シェル体（ 102 ）が、粒子（ 100 ）の直径又は球相当径の $0.5 \sim 6\%$ の平均厚さを有する、
- c) シェル体（ 102 ）が、球状タンパク質に対して $60 \sim 1000\text{ kDa}$ （例えば $100 \sim 1000\text{ kDa}$ 又は $400 \sim 800\text{ kDa}$ ）の分子量カットオフを有する、および / または
- d) 粒子（ 100 ）が実質的に球形である

請求項 1 乃至請求項 3 のいずれか 1 項記載の分離マトリックス。

【請求項 5】

生物粒子の精製方法であって、

- a) 請求項 1 乃至請求項 1 4 のいずれか 1 項記載の分離マトリックスを用意する工程と、
- b) 前記マトリックスを、生物粒子及び 1 種以上の夾雑タンパク質を含む液体に、夾雑タンパク質がマトリックスに結合するように接触させる工程と、
- c) 液体をマトリックスから分離し、精製生物粒子とともに液体を回収する工程と、を含む、生物粒子の精製方法。

【請求項 6】

液体が 10 mS/cm 以上の導電率を有する、請求項 5 記載の方法。

【請求項 7】

- d) 有機溶媒を 15% 未満（ 5% 未満等）の割合で含む再生液にマトリックスを接触させることによってマトリックスを再生する工程と、
 - e) 工程 a) ~ c) を 1 回以上（例えば 5 回以上、10 回以上、又は 50 回以上）繰り返す工程と
- をさらに含む、請求項 5 又は請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

- a) 再生液はアルカリを含む、
- b) 工程 d) の後のマトリックス中の残留タンパク質含有量が $100\text{ }\mu\text{g/ml}$ 未満である、
- c) 生物粒子がウイルス、ウイルス様粒子、細胞、オルガネラ、及びプラスミドからなる群から選択される、
- d) 少なくとも 40 mg/ml 以上（例えば、 60 mg/ml 以上 / ml ）の上記夾雑タンパク質がマトリックスと結合する、
- e) 液体は、緩衝物質を含み、選択的には、緩衝カチオン及び / 又は 1 価の緩衝アニオンを含み、および / または
- f) 液体の pH は $6.0 \sim 8.5$ （例えば、 $6.5 \sim 8.5$ 、又は $6.5 \sim 8.0$ ）であ

る

請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

夾雑タンパク質はアルブミン（例えば、オボアルブミン）であり、選択的に、生物粒子はインフルエンザウイルスを含み、液体は受精卵に由来する尿膜腔液を含む

請求項 5 乃至 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

請求項 1 乃至 4 のいずれか 1 項に係る分離マトリックスの製造方法であって、

a) 複数の多孔質多糖粒子（例えば架橋アガロースゲル粒子）を提供する工程と、

b) 共有結合によって上記粒子に付加した、少なくとも 50 マイクロモル / ml のアリル基を得るために、上記粒子をアリル化剤と反応させる工程と、

c) 上記粒子を最長 30 分の期間にわたってハロゲンと反応させ、その後、アルカリ性水溶液と反応させる工程と、

d) 複数の第 1 級アミンを含むリガンド前駆体を残ったアリル基と結合させる工程とを含む、方法。