

【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27年6月18日 (2015.6.18)

【公表番号】特表2014-516515(P2014-516515A)

【公表日】平成26年7月17日 (2014.7.17)

【年通号数】公開・登録公報2014-038

【出願番号】特願2014-506699(P2014-506699)

【国際特許分類】

C 1 2 N 7/02 (2006.01)

G 0 1 N 30/88 (2006.01)

G 0 1 N 30/84 (2006.01)

G 0 1 N 30/26 (2006.01)

G 0 1 N 30/50 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 7/02

G 0 1 N 30/88 E

G 0 1 N 30/84 Z

G 0 1 N 30/26 A

G 0 1 N 30/50

C 1 2 M 1/00 Z

【手続補正書】

【提出日】平成27年4月24日 (2015.4.24)

【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】

ウイルスを精製する方法であって、前記方法は、

ウイルスおよび液体担体を含むウイルス標品とゲル浸透クロマトグラフィーカラムを接触させることであって、前記ウイルスが前記ゲル浸透クロマトグラフィーカラム上で保持される、ことと、

少なくとも 1 つの賦形剤、二価陽イオン、および、リン酸緩衝食塩水を含む溶出緩衝液により前記ゲル浸透クロマトグラフィーカラムから前記ウイルスを回収することとであって、前記少なくとも 1 つの賦形剤が、ヒスチジンまたはスクロースを含む、こととを含む、方法。

【請求項 2】

前記液体担体が溶出緩衝液である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記少なくとも 1 つの賦形剤が、マンニトールまたはソルビトールの 1 以上を含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記二価陽イオンが Mg^{2+} であり、任意に、 Mg^{2+} が塩化マグネシウムとして存在する、請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

前記リン酸緩衝食塩水が、1 以上のリン酸塩および 1 以上の塩化物塩の組み合わせを含む

、請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

前記 1 以上のリン酸塩が、リン酸二ナトリウム、リン酸二水素カリウム、または、それらの組み合わせを含み、前記 1 以上の塩化物塩が、塩化ナトリウム、塩化カリウム、または、それらの組み合わせを含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記溶出緩衝液が非イオン性界面活性剤をさらに含み、任意に、前記非イオン性界面活性剤がポリソルベート 80 である、請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記溶出緩衝液が、マンニトール、ヒスチジン、ソルビトール、ポリソルベート 80、および、MgCl₂を含むか、または、スクロース、ポリソルベート 80、および、MgCl₂を含み、前記リン酸緩衝食塩水が、リン酸二ナトリウム、リン酸二水素カリウム、塩化ナトリウムおよび塩化カリウムを含むか、または、リン酸二ナトリウム、リン酸二水素カリウム、塩化ナトリウム、および、塩化カリウムを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記溶出緩衝液中で前記ウイルスを保存することをさらに含む、請求項 1 ～ 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

前記ウイルスが腫瘍退縮ウイルスであるか、または、前記ウイルスが非エンベロープウイルスであり、任意にレオウイルスであり、任意に哺乳動物レオウイルスであり、任意にヒトレオウイルスであり、任意に血清型 3 ウイルスであり、任意に血清型 3 ウイルスの D e a r i n g 株である、請求項 1 ～ 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 11】

前記ウイルスが組み換えまたは再集合レオウイルスであり、任意に、前記ウイルスがレオウイルスであり、前記レオウイルスが I D A C # 1 9 0 9 0 7 - 0 1 である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

装置であって、前記装置は、

ゲル浸透クロマトグラフィーカラムと、
溶出緩衝液と

を含み、

前記溶出緩衝液が、少なくとも 1 つの賦形剤、二価陽イオン、および、リン酸緩衝食塩水を含み、

前記少なくとも 1 つの賦形剤が、ヒスチジンまたはスクロースを含む、
装置。

【請求項 13】

前記ゲル浸透クロマトグラフィーカラムが前記緩衝液で平衡化される、請求項 12 に記載の装置。

【請求項 14】

ウイルスおよび液体担体を含むウイルス標品をさらに含む、請求項 12 または 13 に記載の装置。

【請求項 15】

(a) 溶出緩衝液が、少なくとも 1 つの賦形剤と、二価陽イオンと、非イオン性界面活性剤と、リン酸緩衝食塩水とを含み、前記少なくとも 1 つの賦形剤が、ヒスチジンまたはスクロースを含むか、

(b) 溶出緩衝液が、スクロースと、MgCl₂と、ポリソルベート 80 と、リン酸緩衝食塩水とを含むか、または、

(c) 溶出緩衝液が、マンニトールと、ヒスチジンと、ソルビトールと、MgCl₂と、ポリソルベート 80 と、リン酸緩衝食塩水とを含むかであり、

前記溶出緩衝液がゲル浸透クロマトグラフィー溶出緩衝液である、

溶出緩衝液。

【請求項 16】

ゲル浸透クロマトグラフィーカラムからのウイルス回収率を向上させる方法であって、前記方法は、

ウイルスおよび液体担体を含むウイルス標品とゲル浸透クロマトグラフィーカラムを接触させることであって、前記ウイルスが前記ゲル浸透クロマトグラフィーカラム上で保持される、ことと、

少なくとも1つの賦形剤、二価陽イオン、および、リン酸緩衝食塩水を含む溶出緩衝液により前記ゲル浸透クロマトグラフィーカラムから前記ウイルスを回収することであって、前記少なくとも1つの賦形剤が、ヒスチジンまたはスクロースである、こととを含む、方法。

【請求項 17】

前記ウイルス回収率が、リン酸緩衝食塩水で溶出されるウイルスの回収率よりも少なくとも約20%高いか、または、

前記ウイルス回収率が、リン酸緩衝食塩水で溶出されるウイルスの回収率よりも少なくとも約25%高いか、または、

前記ウイルス回収率が、リン酸緩衝食塩水で溶出されるウイルスの回収率よりも少なくとも約30%高いか、または、

前記ウイルス回収率が、リン酸緩衝食塩水で溶出されるウイルスの回収率よりも少なくとも約35%高いかである、

請求項16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】0003

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0003】

ゲル浸透クロマトグラフィーを用いてウイルスを精製するための溶出緩衝液および方法が本明細書中で提供される。本方法は、例えばウイルス製造中のゲル浸透クロマトグラフィーカラムからのウイルス回収率を向上させることにおいて有用である。

実施形態において、本発明は、例えば、下記の項目を提供する。

(項目1)

ウイルスおよび液体担体を含むウイルス標品とゲル浸透クロマトグラフィーカラムを接触させることと(ここで、前記ウイルスはゲル浸透クロマトグラフィーカラム上で保持される。);

少なくとも1つの賦形剤、二価陽イオンおよびリン酸緩衝食塩水を含む溶出緩衝液により前記ゲル浸透クロマトグラフィーカラムから前記ウイルスを回収することと(前記少なくとも1つの賦形剤は、ヒスチジンまたはスクロースを含む。);

を含む、ウイルスを精製する方法。

(項目2)

前記液体担体が溶出緩衝液である、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記少なくとも1つの賦形剤が、マンニトールまたはソルビトールの1以上を含む、項目1または2に記載の方法。

(項目4)

前記二価陽イオンが Mg^{2+} である、項目1から3の何れかに記載の方法。

(項目5)

Mg^{2+} が塩化マグネシウムとして存在する、項目4に記載の方法。

(項目6)

前記リン酸緩衝食塩水が、1以上のリン酸塩および1以上の塩化物塩の組み合わせを含む、項目1から5の何れかに記載の方法。

(項目7)

前記1以上のリン酸塩がリン酸二ナトリウムを含む、項目6に記載の方法。

(項目8)

前記1以上のリン酸塩がリン酸二水素カリウムを含む、項目6または7に記載の方法。

(項目9)

前記1以上の塩化物塩が塩化ナトリウムを含む、項目6に記載の方法。

(項目10)

前記1以上の塩化物塩が塩化カリウムを含む、項目6または9に記載の方法。

(項目11)

前記溶出緩衝液が、非イオン性界面活性剤をさらに含む、項目1から10の何れかに記載の方法。

(項目12)

前記非イオン性界面活性剤がポリソルベート80である、項目11に記載の方法。

(項目13)

前記溶出緩衝液が、マンニトール、ヒスチジン、ソルビトール、ポリソルベート80およびMgCl₂を含み、前記リン酸緩衝食塩水が、リン酸二ナトリウム、リン酸二水素カリウム、塩化ナトリウムおよび塩化カリウムを含む、項目1に記載の方法。

(項目14)

前記溶出緩衝液が、スクロース、ポリソルベート80およびMgCl₂を含み、前記リン酸緩衝食塩水がリン酸二ナトリウム、リン酸二水素カリウム、塩化ナトリウムおよび塩化カリウムを含む、項目1に記載の方法。

(項目15)

前記溶出緩衝液中で前記ウイルスを保存することをさらに含む、項目1から14の何れかに記載の方法。

(項目16)

前記ウイルスが腫瘍退縮ウイルスである、項目1から15の何れかに記載の方法。

(項目17)

前記ウイルスが非エンベロップウイルスである、項目1から15の何れかに記載の方法。

(項目18)

前記ウイルスがレオウイルスである、項目1から17の何れかに記載の方法。

(項目19)

前記レオウイルスが哺乳動物レオウイルスである、項目18に記載の方法。

(項目20)

前記哺乳動物レオウイルスがヒトレオウイルスである、項目19に記載の方法。

(項目21)

前記ヒトレオウイルスが血清型3ウイルスである、項目20に記載の方法。

(項目22)

前記血清型3ウイルスがDearing株である、項目21に記載の方法。

(項目23)

前記レオウイルスが組み換えまたは再集合レオウイルスである、項目18に記載の方法。

(項目24)

前記レオウイルスがIDAC#190907-01である、項目18に記載の方法。

(項目25)

ゲル浸透クロマトグラフィーカラムと、
溶出緩衝液と、を含み、

前記溶出緩衝液が、少なくとも1つの賦形剤、二価陽イオンおよびリン酸緩衝食塩水を

含み、

前記少なくとも１つの賦形剤がヒスチジンまたはスクロースを含む、装置。

(項目 26)

前記ゲル浸透クロマトグラフィーカラムが前記緩衝液で平衡化される、項目 25 に記載の装置。

(項目 27)

ウイルスおよび液体担体を含むウイルス標品をさらに含む、項目 25 または 26 に記載の装置。

(項目 28)

少なくとも１つの賦形剤と；

二価陽イオンと；

非イオン性界面活性剤と；

リン酸緩衝食塩水と、

を含む溶出緩衝液であって、

前記少なくとも１つの賦形剤がヒスチジンまたはスクロースを含み、

ゲル浸透クロマトグラフィー溶出緩衝液である、溶出緩衝液。

(項目 29)

スクロースと；

MgCl₂と；

ポリソルベート 80 と；

リン酸緩衝食塩水と、

を含む溶出緩衝液であって、

ゲル浸透クロマトグラフィー溶出緩衝液である、

溶出緩衝液。

(項目 30)

マンニトールと；

ヒスチジンと；

ソルビトールと；

MgCl₂と；

ポリソルベート 80 と；

リン酸緩衝食塩水と、

を含む溶出緩衝液であって、

ゲル浸透クロマトグラフィー溶出緩衝液である、溶出緩衝液。

(項目 31)

ウイルスおよび液体担体を含むウイルス標品とゲル浸透クロマトグラフィーカラムを接触させることと（ここで、前記ウイルスはゲル浸透クロマトグラフィーカラム上で保持される。）；

少なくとも１つの賦形剤、二価陽イオンおよびリン酸緩衝食塩水を含む溶出緩衝液により前記ゲル浸透クロマトグラフィーカラムから前記ウイルスを回収することと（前記少なくとも１つの賦形剤はヒスチジンまたはスクロースを含む。）、

を含み、

ウイルス回収率が、リン酸緩衝食塩水で溶出されるウイルスの回収率よりも少なくとも約 20 % 高い、ゲル浸透クロマトグラフィーカラムからのウイルス回収率を向上させる方法。

(項目 32)

前記ウイルス回収率が、リン酸緩衝食塩水で溶出されるウイルスの回収率よりも少なくとも約 25 % 高い、項目 31 に記載の方法。

(項目 33)

前記ウイルス回収率が、リン酸緩衝食塩水で溶出されるウイルスの回収率よりも少なくとも約 30 % 高い、項目 31 に記載の方法。

(項目 3 4)

前記ウイルス回収率が、リン酸緩衝食塩水で溶出されるウイルスの回収率よりも少なくとも約 3 5 % 高い、項目 3 1 に記載の方法。