

【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3部門第2区分  
 【発行日】平成27年9月10日(2015.9.10)

【公表番号】特表2014-527518(P2014-527518A)  
 【公表日】平成26年10月16日(2014.10.16)  
 【年通号数】公開・登録公報2014-057  
 【出願番号】特願2014-521843(P2014-521843)  
 【国際特許分類】

C 0 7 K 1/22 (2006.01)  
 C 0 7 K 17/04 (2006.01)  
 C 0 7 K 17/06 (2006.01)  
 C 0 7 K 17/08 (2006.01)  
 C 0 7 K 17/12 (2006.01)  
 C 0 7 K 17/10 (2006.01)  
 C 0 7 K 17/14 (2006.01)  
 C 0 7 K 1/18 (2006.01)  
 C 0 7 K 1/20 (2006.01)  
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)  
 G 0 1 N 30/88 (2006.01)  
 C 0 7 K 16/28 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 1/22 Z N A  
 C 0 7 K 17/04  
 C 0 7 K 17/06  
 C 0 7 K 17/08  
 C 0 7 K 17/12  
 C 0 7 K 17/10  
 C 0 7 K 17/14  
 C 0 7 K 1/18  
 C 0 7 K 1/20  
 A 6 1 K 39/395 B  
 A 6 1 K 39/395 J  
 G 0 1 N 30/88 J  
 G 0 1 N 30/88 2 0 1 R  
 C 0 7 K 16/28

【手続補正書】

【提出日】平成27年7月21日(2015.7.21)

【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】

負荷流体においてポリペプチドグリコフォームを分離する方法であって、

(a)免疫グロブリンFc受容体を含む培地を準備する工程であって、前記免疫グロブリンFc受容体が、FcガンマリIIIIポリペプチド又はFcガンマリIVポリペプチドのFc結合部分を含む工程、

(b) ポリペプチドが前記免疫グロブリンFc受容体と結合する条件下で前記培地を、該ポリペプチドを含む負荷流体と接触させる工程であって、前記ポリペプチドが、前記免疫グロブリンFc受容体結合部分を含み、前記負荷流体が、前記ポリペプチドの複数のグリコフォームを含み、且つ前記Fc受容体が、前記グリコフォームの1つ以上と優先して結合し、前記Fc受容体が、他のグリコフォームに結合する親和性より少なくとも2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、又は150倍大きい親和性で第1のグリコフォームに結合する工程、

(c) 結合したポリペプチドが、前記培地から溶離する条件下で該培地を、溶出液と接触させる工程、及び

(d) 前記培地から溶出する結合したポリペプチドを回収し、それによって、溶出液を得る工程、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項2】

前記免疫グロブリンFc受容体が、

(a) フコースが減少したグリコフォームに優先して結合し、

(b) コアN-フコースが減少したポリペプチドグリコフォームに優先して結合し、任意に、前記免疫グロブリンFc受容体が、FcガンマリIIポリペプチド又はFcガンマリIVポリペプチドの細胞外ドメインを含み、好ましくは、前記FcガンマリIIポリペプチドの細胞外ドメインが、V176アロタイプであり、又は前記免疫グロブリンFc受容体が、全長FcガンマリIIポリペプチドを含み、

(c) 高マンノースオリゴ糖が増加したポリペプチドグリコフォームに優先して結合し

、

(d) グリコシル化されており、

(e) 配列番号1のアミノ酸残基21-209と少なくとも85%同一の配列を含み、

(f) FcガンマリIIa V176、FcガンマリIIa F176、FcガンマリIIb NA1、FcガンマリIIb NA2、FcガンマリIIa H131、FcガンマリIIa R131、FcガンマリIIb I232、及びFcガンマリIIb T232からなる群より選ばれ、又は

(g) 免疫グロブリンFc領域を含む結合部分を含む、

請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記培地を、1つ以上の洗浄液と接触させた後、前記培地を、前記溶出液と接触させる工程を含み、任意に前記1つ以上の洗浄液が、1~500mMの緩衝液、及び0~2000mMの塩、及び/又は添加剤及び/又は溶媒をpH 3.5~10で含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記培地を通過するポリペプチドを回収する工程を含み、任意に、

(a) 前記培地をそのポリペプチド容量の5-1900%で充填する工程を含むか、又は前記培地を通過したポリペプチドから医薬組成物を製造する工程を更に含むか、

(b) 前記培地を通過したポリペプチドを分析する工程を含み、任意に、(i) ポリペプチド上のオリゴ糖が分析され、(ii) 1つ以上の毒性、安定性、又は有効性が分析され、又は(iii) ポリペプチドの生物活性が分析され、好ましくは、前記培地を通過したポリペプチドの生物活性が、負荷流体中のポリペプチドの活性に対して相対的に変えられる、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記負荷流体が、

(a) 細胞培地を含み、

(b) 1つ以上のイオン交換クロマトグラフィによって精製された流体を含み、又は

(c) 医薬品又は薬剤物質を含む、

請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記ポリペプチドが、

( a ) 抗体を含むか、

( b ) Fc融合タンパク質を含むか、又は

( c ) 単ドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、細胞内抗体、小モジュラー免疫薬(SMIP)、IgG-scFv二重特異性抗体、抗体-ペプチド結合体、抗体-薬剤結合体、及びウイルス又はウイルスカプシド上のFc受容体結合ポリペプチド抗体より選ばれる1つ以上の抗体を含む、

請求項1に記載の方法。

【請求項7】

前記ポリペプチドが、

( a ) 哺乳類細胞において、任意に、CHO細胞において、NSo細胞において、又はSp2/o細胞において、

( b ) 真菌細胞において、

( c ) 昆虫細胞において、又は

( d ) 植物細胞において、

生産される、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

前記負荷流体が、前記免疫グロブリンFc受容体に優先して結合する第1のグリコフォームを含み、且つ前記溶出液中の前記第1のグリコフォームのパーセントが、該負荷流体に対して相対的に少なくとも20%だけ増加し、任意に、

( a ) 前記溶出液中の前記第1のグリコフォームのパーセントが、該負荷流体に対して相対的に少なくとも50%、100%、2倍、5倍、10倍、又は20倍だけ増加する、

( b ) 前記溶出液中の前記第1のグリコフォームのパーセントが、少なくとも20%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、又は80%である、

( c ) 前記第1のグリコフォームが、低フコシル化グリコフォームである、

( d ) 前記第1のグリコフォームが、シアリル化がない又はシアリル化が低下したグリコフォームである、

( e ) 前記第1のグリコフォームが、ガラクトシル化グリコフォームである、又は

( f ) 前記第1のグリコフォームが、高マンノースオリゴ糖を有するグリコフォームである、

請求項1に記載の方法。

【請求項9】

( a ) 前記溶出液が、前記培地から溶離した結合ポリペプチドの1つ以上の画分を含むか、

( b ) 前記負荷流体が、Fc受容体に優先して結合しない第2のグリコフォームを含み、且つ前記溶出液中の該第2のグリコフォームのパーセントが、該負荷流体に対して相対的に低下するか、

( c ) 前記流出液中のポリペプチドの生物活性が、該負荷流体中のポリペプチドの活性に対して相対的に変えられ、任意に、該生物活性が、抗体依存性細胞伸介細胞毒性(ADCC)を含み、且つADCCが増加するか、

( d ) 前記培地が、ビーズ、膜、モノリス、繊維マトリックス、多孔質媒体、又はゲルを含むか、

( e ) 前記培地が、アガロース、セルロース、又はデキストラン、セラミック、金属、ガラス、ナイロン、テフロン、ナイロン、ポリカーボネート、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエーテルスルホン、ポリアミド、ポリテトラフルオロエチレン、ポリスルホン、ポリエステル、ポリフッ化ビニリデン、フルオロカーボン、ポリエチレン、ポリアクリレート、又はポリ(アゾラクトン)を含むか、

( f ) 前記免疫グロブリンFc受容体が、架橋剤又は酵素伸介カップリングを介して前記培地に結合されるか、

( g ) 前記免疫グロブリンFc受容体が、ジスルフィド結合、金属キレート化、臭化シアニン、NHS結合、ヒスチジンタグ、グリシジルエーテル、エポキシ、トレシルクロリド結合

、トシルクロリド結合、EAH結合、ECH結合、活性化チオール結合、又はチオプロピル結合を介して前記培地に結合されるか、

(h) 前記培地が、前記免疫グロブリンFc受容体を0.1~15mg/mLの濃度で含むか、

(i) 前記培地を、pH 3.5~10において、1~500mMの緩衝液、及び0~2000mMの塩を含む平衡溶液で平衡化した後、該培地を前記負荷流体と接触させるか、

(j) 前記負荷流体が、前記ポリペプチドを0.001~100mg/mLの濃度で含むか、

(k) 前記培地と接触させた前記ポリペプチドの量が、0.1~25,000mgのポリペプチド/mL培地の範囲にあるか、

(l) 前記溶出液が、pH 2~5及び又は0~2000mMの塩、及び/又は添加剤及び/又は溶媒を有するか、又は

(m) 培地を、pH勾配が適用される条件下で1つ以上の溶出液と接触させる、

請求項1に記載の方法。

**【請求項10】**

更に、

(a) 前記溶出液を分別するか、

(b) 前記溶出液を中和するか、

(c) 前記溶出液を第2の培地と接触させ、及び該第2の培地を通過するか又は該第2の培地から溶離されるポリペプチドを回収し、任意に、該第2の培地が、イオン交換培地、ヒドロキシアパタイト培地、プロテインA培地、疎水性相互作用培地、固定された金属親和性培地、合成培地(バイオミメティック)、レクチン、又はこれらの組み合わせを含むか、

(d) 前記溶出液中のポリペプチドから医薬組成物を製造するか、又は

(e) 前記培地から溶離したポリペプチドの特性を分析し、任意に、(i)ポリペプチドからのオリゴ糖が分析され、(ii)ポリペプチドの生物活性が分析され、(iii)1つ以上の毒性、安定性、又は有効性が分析され、又は(iv)分析する工程が、更に、前記負荷流体中のポリペプチド及び/又は前記培地を通過したポリペプチドを分析することを含む、  
請求項1に記載の方法。

**【請求項11】**

請求項1に記載の方法によって回収されたポリペプチドを含む組成物。

**【請求項12】**

(a) Fc受容体を含む培地を準備する工程であって、前記Fc受容体が、FcガンマRIIIポリペプチドのFc結合部分を含む工程であって、任意に、該Fc受容体が、FcガンマRIIIポリペプチドの細胞外ドメイン含む工程、

(b) ポリペプチドが該培地に結合する条件下で、該培地を該ポリペプチドを含む負荷流体と接触させる工程であって、前記ポリペプチドが、免疫グロブリンFc領域を含み、前記免疫グロブリンFc受容体が、他のグリコフォームに結合する親和性より少なくとも2倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、又は150倍高い親和性で第1のグリコフォームに結合する工程、

(c) 結合したポリペプチドが前記培地から溶離する条件下で、該培地を該溶出液と接触させる工程、及び

(d) 前記培地から溶出する結合したポリペプチドを回収し、それによって、溶出液を得る工程、

を含むことを特徴とする方法。

**【請求項13】**

固体担体に結合したFc受容体を含む培地であって、前記Fc受容体が、FcガンマRIIIポリペプチドのFc結合部分を含み、任意に、前記固体担体が、アガロース、セルロース、又はデキストラン、セラミック、金属、ガラス、ナイロン、テフロン、ナイロン、ポリカーボネート、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエーテルスルホン、ポリアミド、ポリテトラフルオロエチレン、ポリスルホン、ポリエステル、ポリフッ化ビニリデン、フルオロカーボン(例えばポリ(テトラフルオロエチレン-コ-ペルフルオロ(ア

ルキルビニルエーテル))、ポリエチレン、ポリアクリレート、又はポリ(アゾラクトン)を含むか、該固体担体が、ビーズ、膜、モノリス、繊維マトリックス、多孔質媒体、又はゲルを含むことを特徴とする培地。

【請求項 1 4】

前記Fc受容体が、モノマー性の第1のグリコフォームと結合する、請求項1又は12に記載の方法。

【請求項 1 5】

(a) 固体担体に結合した免疫グロブリンFc受容体を含む培地であって、免疫グロブリンFc受容体が、Fcガンマリポリペプチド、FcガンマRIIポリペプチド、FcガンマRIIIポリペプチド、及びFcガンMARIVポリペプチドのFc結合部分からなる群より選ばれるFc結合部分を含んでいる培地；及び(b) 請求項1に記載の方法に従って用いられる説明書を含むキットであって、任意に、前記固体担体が、アガロース、セルロース、又はデキストラン、セラミック、金属、ガラス、ナイロン、テフロン、ナイロン、ポリカーボネート、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエーテルスルホン、ポリアミド、ポリテトラフルオロエチレン、ポリスルホン、ポリエステル、ポリフッ化ビニリデン、フルオロカーボン(例えばポリ(テトラフルオロエチレン-コ-ペルフルオロ(アルキルビニルエーテル))、ポリエチレン、ポリアクリレート、又はポリ(アゾラクトン)を含むか、該固体担体が、ビーズ、膜、モノリス、繊維マトリックス、多孔質媒体、又はゲルを含むことを特徴とするキット。