



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2240578 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 9/64 (2006.01)
C07K 14/755 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.08.12
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.03.20
(86)	European Application Nr.	08869658.8
(86)	European Filing Date	2008.12.19
(87)	The European Application's Publication Date	2010.10.20
(30)	Priority	2007.12.31, US, 1815207 P
(84)	Designated Contracting States:	AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; TR
(73)	Proprietor	Baxalta GmbH, Zählerweg 4, 6300 Zug, Sveits Baxalta Incorporated, 1200 Lakeside Drive, Bannockburn, IL 60015, USA
(72)	Inventor	PLAIMAUER, Barbara, Boecklinstrasse 102/10, A-1020 Vienna, Østerrike VON FIRCKS, Simone, 43 Hattaway AveBuckland's Beach, 2012 Auckland, New Zealand GRILLBERGER, Leopold, Finsterergasse 1a, A-1220 Vienna, Østerrike HASSLACHER, Meinhard, Vorgartenstrasse 221/1/7, A-1020 Vienna, Østerrike GEYER, Roland, Leithastrasse 23/3, A-1200 Vienna, Østerrike MITTERER, Artur, Schwarzeckerweg 10, A-2304 Orth/donau, Østerrike REITER, Manfred, Gebrueder-lang-gasse 11/17, A-1150 Vienna, Østerrike
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	SUBSTANTIALLY ANIMAL PROTEIN-FREE RECOMBINANT FURIN AND METHODS FOR PRODUCING SAME
(56)	References Cited:	WO-A2-2008/141824 WO-A-01/94383 WO-A-92/09698 HATSUZAWA K ET AL: "PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF FURIN A KEX2-LIKE PROCESSING ENDOPROTEASE PRODUCED IN CHINESE HAMSTER OVARY CELLS" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM, US, vol. 267, no. 23, 15 August 1992 (1992-08-15), pages 16094- 16099, XP002350311 ISSN: 0021-9258 NAKAYAMA K: "Purification of recombinant soluble forms of furin produced in Chinese hamster

ovary cells", METHODS IN ENZYMOLOGY, ACADEMIC PRESS, US, vol. 244, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 167-175, XP008096047, ISSN: 0076-6879, DOI: 10.1016/0076-6879(94)44014-X

AYOUBI TORIK A Y ET AL: "Production of recombinant proteins in Chinese hamster ovary cells overexpressing the subtilisin-like proprotein converting enzyme furin" MOLECULAR BIOLOGY REPORTS, REIDEL, DORDRECHT, NL, vol. 23, no. 2, 1 January 1996 (1996-01-01), pages 87-95, XP009096562 ISSN: 0301-4851

NISHIGORI T ET AL: "Proinsulin cleaved by furin is processed to chromatographically mature insulin by carboxypeptidases in nonneuroendocrine cells." PEPTIDES 1996, vol. 17, no. 5, 1996, pages 789-796, XP002524490 ISSN: 0196-9781

TURECEK PETER L ET AL: "Biochemical and functional characterization of a serum-free rVWF drug candidate." BLOOD, vol. 108, no. 11, Part 1, November 2006 (2006-11), page 303A, XP002524489 & 48TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; ORLANDO, FL, USA; DECEMBER 09 -12, 2006 ISSN: 0006-4971

CHIRON M F ET AL: "Furin-mediated cleavage of Pseudomonas exotoxin-derived chimeric toxins" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BIRMINGHAM, US, vol. 272, no. 50, 12 December 1997 (1997-12-12), pages 31707-31711, XP008102903 ISSN: 0021-9258

PREININGER A ET AL: "STRATEGIES FOR RECOMBINANT FURIN EMPLOYMENT IN A BIOTECHNOLOGICAL PROCESS: COMPLETE TARGET PROTEIN PRECURSOR CLEAVAGE" CYTOTECHNOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DORDRECHT, NL, vol. 1-03, no. 30, 1 January 1999 (1999-01-01), pages 1-15, XP001094272 ISSN: 0920-9069 cited in the application

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

Patentkrav

1. Sammensetning omfattende hovedsakelig animalsk proteinfri rekombinant furin (rFurin) med en spesifikk aktivitet på minst 300 U/ μ g protein, hvor sammensetningen
5 omfatter vertscelle-DNA i en konsentrasjon mellom ca. 0 til 0,4 pg DNA/U furinaktivitet, hvor rFurinaktiviteten måles på et kort syntetisk peptid inneholdende den dibasiske gjenkjenningssekvensen festet til en fluorescerende aminometylkumarin (AMC)-gruppe, som frigjøres etter spalting (BOC-RVRR-AMC), hvorved en aktivitetseenhet er definert som frigjøringen av 1 pMol AMC per minutt ved 30°C.
10
2. Sammensetning ifølge krav 1 omfattende rekombinant furin ved spesifikk aktivitet på minst 350 U/ μ g protein.
3. Sammensetning ifølge krav 1 omfattende rekombinant furin ved en spesifikk
15 aktivitet på minst 400 U/ μ g protein.
4. Sammensetning ifølge krav 1 omfattende rekombinant furin ved en spesifikk aktivitet på minst 450 U/ μ g protein.
- 20 5. Sammensetning ifølge krav 1 omfattende rekombinant furin ved en spesifikk aktivitet på minst 500 U/ μ g protein.
6. Sammensetning ifølge krav 1 omfattende rekombinant furin ved en spesifikk aktivitet på minst 600 U/ μ g protein.
25
7. Fremgangsmåte for fremstilling av sammensetning ifølge krav 1 omfattende trinnet å dyrke en vertscelle transformert eller transfektert med et polynukleotid som koder for furin i serumfritt medium i en batchgjentilførselskulturprosess (batch refeed culture process) under betingelser som tillater utskillelse av furin inn i mediet, å binde utskilt
30 furin på en multimodal kationbytteharpiks; og å utvinne utskilt furin fra den multimodale kationbytteharpiks.
8. Fremgangsmåte ifølge krav 7, omfattende trinnet å tilpasse vertscellen til å vokse i medium med stadig lavere konsentrasjoner av serum inntil alt serum er fjernet fra
35 mediet.

9. Fremgangsmåte ifølge krav 7, omfattende å overføre vertscellen fra vekst i medium omfattende serum til vekst i serumfritt medium.

10. Fremgangsmåte ifølge krav 8 eller 9, hvor vertscellen er en CHO-celle.

5

11. Fremgangsmåte for anvendelse av sammensetning ifølge krav 1 omfattende trinnet å bringe et proprotein i kontakt med et furinspaltingssted med sammensetningen under betingelser for å spalte et propeptid fra proproteinet for å fremstille et modent protein.

10

12. Fremgangsmåte ifølge krav 11, hvor det modne proteinet er von Willebrands faktor.

13. Fremgangsmåte ifølge krav 11, hvor det modne proteinet er Faktor VIII.

15

14. Sammensetning ifølge krav 1, hvor vertscellen er en kinesisk hamster ovarie (CHO)-celle.