



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2436700 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C08B 37/00 (2006.01)
A61K 47/64 (2017.01)
C12P 19/04 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.10.08
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.06.20
(86)	European Application Nr.	11194173.8
(86)	European Filing Date	2008.03.20
(87)	The European Application's Publication Date	2012.04.04
(30)	Priority	2007.03.23, US, 896616 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
(62)	Divided application	EP2129693, filing date 2008.03.20
(73)	Proprietor	Wyeth LLC, 235 East 42nd Street, New York, NY 10017-5755, US-USA
(72)	Inventor	Yuan, Yonghui, 118 Newport Avenue, Tappan, NY New York 10983, US-USA Ruppen, Mark, 6 Lea Avenue, Garnerville, NY New York 10923, US-USA Sun, Wei-Qiang, 30 Windmill Drive, Morristown, NJ New Jersey 07960, US-USA Chu, Ling, 5 Potter Lane, Suffern, NY New York 10901, US-USA Simpson, John, 417 Maple Avenue, Upper Nyack, NY New York 10960, US-USA Patch, James, 11 River Avenue, Cornwall On Hudson, NY New York 12520, US-USA Fink Charbonneau, Pamela, 8 Eldor Avenue, New City, NY New York 10956, US-USA Moran, Justin K., 682 Sierra Vista Lane, Valley Cottage, NY New York 10989, US-USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	SHORTENED PURIFICATION PROCESS FOR THE PRODUCTION OF CAPSULAR STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE POLYSACCHARIDES
(56)	References Cited:	EP-A- 1 762 245, US-A1- 2006 228 381, EP-A- 0 002 404, US-A- 5 623 057, WO-A-82/01995

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. Fremgangsmåte for produksjon av rensede kapsulære polysakkarider fra et *Streptococcus pneumoniae*-cellelysat, idet fremgangsmåten omfatter trinnene:

- 5 (a) tilveiebringelse av et gjæringsmedium omfattende bakterielle celler som produserer en valgt *Streptococcus pneumoniae*-serotype;
 - (b) lysing av de bakterielle cellene i trinn (a) med et lytisk middel og derved produsere et cellelysat omfattende cellerester, løselige proteiner, nukleinsyrer og polysakkarider;
 - 10 (c) klaring av cellelysatet i trinn (b) ved anvendelse av sentrifugering eller filtrering for å fjerne cellerester og derved produsere et klaret cellelysat;
 - (d) ultrafiltrering og diafiltrering av det klarede cellelysatet i trinn (c) for å fjerne urenheter med lav molekylvekt og øke polysakkaridkonsentrasjonen og derved produsere et retentat;
 - 15 (e) senking av pH-en til retentatet i trinn (d) til mindre enn 4,5 ved å anvende en organisk eller en mineralsk syre for å felle ut protein og nukleinsyrer og derved danne en surgjort retentatløsning;
 - (f) oppbevaring av den surgjorte retentatløsningen dannet i trinn (e) tilstrekkelig lenge til at presipitatet felles ut, etterfulgt av filtrering eller sentrifugering av den
 - 20 surgjorte retentatløsningen og derved produsere en klaret polysakkaridløsning;
 - (g) filtrering av den klarede polysakkaridløsningen i trinn (f) gjennom et aktivert karbon-filter;
 - (h) ultrafiltrering og diafiltrering av den filtrerte løsningen produsert i trinn (g) og derved produsere en konsentrert rensset polysakkaridløsning; og
 - 25 (i) filtrering av den konsentrerte rensede polysakkaridløsningen produsert i trinn (h) ved anvendelse av et sterilt filter;
- hvorved rensede kapsulære polysakkarider i form av en løsning produseres.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den valgte *Streptococcus pneumoniae*-serotypen er valgt fra gruppen bestående av 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, og 23F.

3. Fremgangsmåten ifølge krav 1, omfattende trinnene:

- 35 (a) tilveiebringelse av et gjæringsmedium omfattende bakterielle celler som produserer *Streptococcus pneumoniae*-serotype 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F eller 23F;

(b) lysering av de bakterielle cellene i trinn (a) med et lytisk middel og derved produsere et cellelysat omfattende cellerester, løselige proteiner, nukleinsyrer og polysakkarider;

5 (c) klaring av cellelysatet i trinn (b) ved anvendelse av sentrifugering eller filtrering for å fjerne cellerester og derved produsere et klaret cellelysat;

(d) ultrafiltrering og diafiltrering av det klarede cellelysatet i trinn (c) ved romtemperatur ved nøytral pH i saltfritt medium for å fjerne urenheter med lav molekylvekt og øke polysakkaridkonsentrasjonen og derved produsere et saltfritt retentat;

10 (e) senking av pH-en til det saltfrie retentatet i trinn (d) til mindre enn 4,5 ved anvendelse av en organisk eller en mineralsk syre for å felle ut protein og nukleinsyrer og derved danne en surgjort retentatløsning;

(f) oppbevaring av den surgjorte retentatløsningen dannet i trinn (e) i minst 2 timer ved romtemperatur slik at presipitatet kan felles ut, etterfulgt av filtrering
15 eller sentrifugering av den surgjorte retentatløsningen og derved produsere en klaret polysakkaridløsning;

(g) filtrering av den klarede polysakkaridløsningen i trinn (f) gjennom et aktivert karbon-filter;

(h) ultrafiltrering og diafiltrering av den filtrerte løsningen produsert i trinn (g) og
20 derved produsere en konsentrert rensed polysakkaridløsning; og

(i) filtrering av den konsentrerte rensede polysakkaridløsningen produsert i trinn (h) ved anvendelse av et sterilt filter;

hvorved rensede kapsulære polysakkarider omfattende serotype 1, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F eller 23F i form av en løsning produseres.

25

4. Fremgangsmåten ifølge krav 1, 2 eller 3, hvori pH-en i trinn (e) senkes til ca. 3,5.

30

5. Fremgangsmåten ifølge krav 1, 2, 3 eller 4, hvori diafiltreringen i trinn (h) omfatter en pH-justering til mellom ca. 5,5 og ca. 7,5, foretrukket hvori diafiltreringen i trinn (h) omfatter en pH-justering til mellom ca. 7,0 og ca. 7,5, enda mer foretrukket hvori diafiltreringen i trinn (h) omfatter en pH-justering til ca. 7,4.

35

6. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori trinn (e) fjerner minst 98 % protein fra retentatet i trinn (d).

7. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvori trinn (g) fjerner minst 90 % av proteinet fra den klarede polysakkaridløsningen i trinn (f).

5 **8.** Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvori aktivert karbon-filteret i trinn (g) omfatter trebasert fosforsyre-aktivert karbon.

9. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvori trinn (f) omfatter oppbevaring av den surgjorte retentatløsningen dannet i trinn (e) i minst 2 timer.

10

10. Fremgangsmåten ifølge krav 1, omfattende trinnene:

(a) tilveiebringelse av et gjæringsmedium omfattende bakterielle celler som produserer *Streptococcus pneumoniae*-serotype 19A;

15

(b) lysing av de bakterielle cellene i trinn (a) med et lytisk middel og derved produsere et cellelysat omfattende cellerester, løselige proteiner, nukleinsyrer og polysakkarider;

(c) klaring av cellelysatet i trinn (b) ved anvendelse av sentrifugering eller filtrering for å fjerne cellerester og derved produsere et klaret cellelysat;

20

(d) ultrafiltrering og diafiltrering av det klarede cellelysatet i trinn (c) ved ca. 4 °C ved en pH på ca. 6 i natriumfosfatbuffer for å fjerne urenheter med lav molekylvekt og øke polysakkaridkonsentrasjonen og derved produsere et retentat;

(e) senking av pH-en til retentatet i trinn (d) til mindre enn 4,5 ved å anvende en organisk eller en mineralsk syre for å felle ut protein og nukleinsyrer og derved danne en surgjort retentatløsning;

25

(f) oppbevaring av den surgjorte retentatløsningen dannet i trinn (e) i minst 2 timer ved ca. 4 °C slik at presipitatet felles ut, etterfulgt av filtrering eller sentrifugering av den surgjorte retentatløsningen og derved produsere en klaret polysakkaridløsning;

(g) justering av pH-en til den klarede polysakkaridløsningen i trinn (f) til ca. 6 og derved produsere en pH-justert klaret polysakkaridløsning;

30

(h) filtrering av den pH-justerte klarede polysakkaridløsningen i trinn (g) gjennom et aktivert karbonfilter;

(i) ultrafiltrering og diafiltrering av den filtrerte løsningen produsert i trinn (h) og derved produsere en konsentrert rensed polysakkaridløsning; og

35

(j) filtrering av den konsentrerte rensede polysakkaridløsningen produsert i trinn (i) ved anvendelse av et sterilt filter;

hvorved rensede kapsulære polysakkarider omfattende serotype 19A i form av en løsning produseres.

11. Fremgangsmåten ifølge krav 10, hvori pH-en i trinn (e) senkes til ca. 3,5.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 10 eller 11, hvori diafiltreringen i trinn (i) omfatter en pH-justering til mellom ca. 5,5 og ca. 7,5, foretrukket hvori diafiltreringen i trinn (i) omfatter en pH-justering til mellom ca. 7,0 og ca. 7,5, enda mer foretrukket hvori diafiltreringen i trinn (i) omfatter en pH-justering til ca. 7,4.

13. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 12, hvori trinn (e) fjerner minst 98 % av proteinet fra retentatet i trinn (d).

14. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 13, hvori trinn (h) fjerner minst 90 % av proteinet fra den pH-justerte klarede polysakkaridløsningen i trinn (g).

15. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 13, hvori aktivert karbon-filteret i trinn (h) omfatter trebasert fosforsyre-aktivert karbon.

16. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 15, hvori natriumfosfatbufferen i trinn (d) er 25 mM natriumfosfat.

17. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 16, hvori det lytiske middelet i trinn (b) er deoksycholatsodium.

18. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 16, hvori det lytiske middelet i trinn (b) er et ikke-animalsk avledet lytisk middel, foretrukket hvori det ikke-animalske avledede lytiske middelet er valgt fra gruppen bestående av: dekansulfonsyre, tert-oktylfenoksy-poly(oksyetylen)etanoler, oktylfenoletylenoksidkondensater, N-laurylsarkosinnatrium (NLS), lauryliminodipropionat, natriumdodekylsulfat, chenodeoksykholat, hyodeoksykholat, glykodeoksykholat, taurodeoksykholat, taurochenodeoksykholat og cholat, enda mer foretrukket hvori det ikke-animalske avledede lytiske middelet er N-laurylsarkosinnatrium.

19. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 18, hvori den mineralske syren er valgt fra gruppen bestående av saltsyre, salpetersyre, fosforsyre og svovelsyre.

5 **20.** Fremgangsmåte for fremstilling av en pneumokokkvaksine, som omfatter produksjon av rensede kapsulære polysakkarider fra et *Streptococcus pneumoniae*-cellelysat ved en fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 19 og ved anvendelse av de rensede kapsulære polysakkaridene i fremstilling av en pneumokokkvaksine.

10 **21.** Fremgangsmåten ifølge krav 20, hvori pneumokokkvaksinen inneholder polysakkarid konjugert med en proteinbærer.