



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2994485 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/06 (2006.01)
C07K 1/18 (2006.01)
C07K 1/22 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.06.25
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.01.10
(86)	European Application Nr.	14722194.9
(86)	European Filing Date	2014.05.06
(87)	The European Application's Publication Date	2016.03.16
(30)	Priority	2013.05.06, EP, 13305593
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	SANOFI, 54, rue La Boétie, 75008 Paris, FR-Frankrike
(72)	Inventor	DUTHE, Didier, c/o SANOFI54 rue La Boétie, F-75008 Paris, FR-Frankrike HEMET, Céline, c/o SANOFI54 rue La Boétie, F-75008 Paris, FR-Frankrike LANDRIC-BURTIN, Laure, c/o SANOFI54 rue La Boétie, F-75008 Paris, FR- Frankrike MOTHES, Benoît, c/o SANOFI54 rue La Boétie, F-75008 Paris, FR-Frankrike
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	CONTINUOUS MULTISTEP PROCESS FOR PURIFYING ANTIBODIES
(56)	References Cited:	WO-A1-2009/099829, WO-A1-2009/111347, WO-A1-2013/075849, SHAMASHKIN MICHAEL ET AL: "A tandem laboratory scale protein purification process using Protein A affinity and anion exchange chromatography operated in a weak partitioning mode.", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING OCT 2013, vol. 110, no. 10, October 2013 (2013-10), pages 2655-2663, XP002727349, ISSN: 1097-0290, US-A1- 2007 259 453, MAHAJAN EKTA ET AL: "Improving affinity chromatography resin efficiency using semi-continuous chromatography.", JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY. A 2 MAR 2012, vol. 1227, 2 March 2012 (2012-03-02), pages 154-162, XP002727348, ISSN: 1873-3778, WO-A2-2011/090719

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 rensing av et protein fra løsning, omfattende:

5 (a) et første kromatografitrinn, omfattende å:

- føre løsningen over en første kromatografikolonne, hvor den første kromatografikolonnen er en affinitetskromatografikolonne som er en Protein A-kolonne;

10 - eluere en råproteineluent fra den første kromatografikolonnen ved hjelp av et første elueringsbuffer;

(b) et andre kromatografitrinn, omfattende å:

- føre råproteineluenten som oppnås til slutt i trinn (a) over en andre kromatografikolonne, hvor den andre kromatografikolonnen er en multimodal harpikskromatografikolonne;

15 - eluere et proteineluat fra den andre kromatografikolonnen ved hjelp av et andre elueringsbuffer; og

(c) et tredje kromatografitrinn, omfattende å:

20 - føre proteineluatet som oppnås til slutt i trinn (b) gjennom en tredje kromatografikolonne i gjennomstrømningsmodus, hvor den tredje kromatografikolonnen er en anionutveksling-kromatografikolonne;

- gjenvinne rensset protein fra gjennomstrømningen i den tredje kromatografikolonnen;

hvor hvert av bufrene består av Bis-Tris, eddiksyre, NaCl, vann og eventuelt NH₄Cl, og hvor fremgangsmåten utføres i kontinuerlig modus.

25

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor råproteineluenten som oppnås til slutt i trinn (a) føres direkte over en andre kromatografikolonne, uten å gjennomgå noen som helst behandling så som pH-justering, bufferutveksling eller fortynning.

30 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor proteineluatet som oppnås til slutt i trinn (b) føres direkte over en tredje kromatografikolonne, uten å gjennomgå noen som

helst behandling så som pH-justering, bufferutveksling eller fortynning.

4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor fremgangsmåten utføres i et lukket system fra det første trinnet til det siste.

5

5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor hvert av de to første kromatografitrinnene omfatter å:

- føre ekvibreringsbuffer over kromatografikolonnen;
- føre løsningen eller råproteineluentsen over kromatografikolonnen;
- 10 - føre ekvibreringsbuffer over kromatografikolonnen;
- eventuelt føre vaskebuffer over kromatografikolonnen;
- eventuelt føre ekvibreringsbuffer over kromatografikolonnen;
- eluere råproteineluentsen eller proteineluatet fra kromatografikolonnen ved hjelp av et elueringsbuffer,

15 hvor hvert av bufrene består av Bis-Tris, eddiksyre, NaCl, vann og eventuelt NH₄Cl.

6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor fremgangsmåten omfatter trinnene:

(a) et første kromatografitrinn, omfattende å:

20 (i) føre ekvibreringsbuffer over en første kromatografikolonne, hvor den første kromatografikolonnen er en affinitetskromatografikolonne som er en Protein A-kolonne;

(ii) føre løsningen over den første kromatografikolonnen;

(iii) føre ekvibreringsbuffer over den første kromatografikolonnen;

25 (iv) føre vaskebuffer over den første kromatografikolonnen;

(v) føre ekvibreringsbuffer over den første kromatografikolonnen; og

(vi) eluere en råproteineluent fra den første kromatografikolonnen ved hjelp av et første elueringsbuffer;

(b) et andre kromatografitrinn, omfattende å:

30 (i) føre ekvibreringsbuffer over en andre kromatografikolonne, hvor den andre kromatografikolonnen er en multimodal harpikskromatografikolonne;

(ii) føre råproteineluente fra trinn (a) over den andre kromatografikolonnen;

(iii) føre ekvilibreringsbuffer over den andre kromatografikolonnen; og

(iv) eluere et proteinelat fra den andre kromatografikolonnen ved hjelp
5 av et andre elueringsbuffer;
og

(c) et tredje kromatografitrinn, omfattende å:

(i) føre ekvilibreringsbuffer over en tredje kromatografikolonne, hvor
den tredje kromatografikolonnen er en anionutveksling-kromatografikolonne;

10 (ii) føre proteinelatet fra trinn (b) over den tredje kromatografikolonnen
i gjennomstrømningsmodus;

(iii) eventuelt føre vaskebuffer over den tredje kromatografikolonnen; og

(iv) gjenvinne rensset protein fra gjennomstrømningen i den tredje
kromatografikolonnen.

15

7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor proteinet er
et monoklonalt antistoff.

8. Fremgangsmåte ifølge krav 7, hvor det monoklonale antistoffet velges fra
20 gruppen bestående av et antistoff som spesifikt binder til den protofibrillære formen av
det humane β -amyloidprotein, et antistoff som spesifikt binder til det bakterielle
overflatepolysakkaridet poly-N-acetyl-glukosamin (PNAG), et antistoff som spesifikt
binder til carcinoembryonisk antigenrelatert celleadhesjonsmolekyl 5 (CEACAM5) og
et antistoff som spesifikt binder til CD38-transmembranglykoproteinet.

25

9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, videre omfattende
et nanofiltreringstrinn etter trinn (c).

10. Fremgangsmåte ifølge krav 9, videre omfattende et ultrafiltrerings- og
30 diafiltreringstrinn etter nanofiltreringstrinnet.

11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor det første elueringsbufferet omfatter 15 til 25 mM Bis-Tris og 15 til 25 mM NaCl, justert til en pH omfattet mellom 3 og 4 med eddiksyre.
- 5 12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11, hvor det andre elueringsbufferet omfatter 15 til 25 mM Bis-Tris, 40 til 50 mM NaCl og 20 til 30 mM NH₄Cl, justert til en pH omfattet mellom 7 og 8 med eddiksyre.
13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 5 til 12, hvor
10 ekvibreringsbufferet omfatter 15 til 25 mM Bis-Tris og 15 til 25 mM NaCl, justert til en pH omfattet mellom 7 og 8 med eddiksyre.
14. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 5 til 13, hvor
15 vaskebufferet omfatter 15 til 25 mM Bis-Tris og 0,9 til 1,1 M NaCl, justert til en pH omfattet mellom 7 og 8 med eddiksyre.
15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 14, hvor det rensede proteinet gjenvinnes med et utbytte på minst 95%.
- 20 16. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 15, hvor det gjenvunne rensede proteinet har en renhet på minst 99%.
17. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 16, videre
25 omfattende det trinn å formulere det gjenvunne rensede proteinet i en farmasøytisk sammensetning.