



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3094640 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 1/16 (2006.01)
A61L 2/08 (2006.01)
B01D 15/18 (2006.01)
B01D 15/20 (2006.01)
B01D 15/42 (2006.01)
C12N 9/40 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.04.26
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.11.18
(86)	European Application Nr.	15708622.4
(86)	European Filing Date	2015.01.16
(87)	The European Application's Publication Date	2016.11.23
(30)	Priority	2014.01.17, US, 201461928906 P
(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
	Designated Extension States:	BA ; ME
(73)	Proprietor	Genzyme Corporation, 50 Binney Street, Cambridge, MA 02142, USA
(72)	Inventor	GODAWAT, Rahul, c/o SANOFI55 Corporate DriveMail Code: 55A-505A, Bridgewater, New Jersey 08807, USA WARIKOO, Veena, c/o SANOFI55 Corporate DriveMail Code: 55A-505A, Bridgewater, New Jersey 08807, USA PATIL, Rohan, c/o SANOFI55 Corporate DriveMail Code: 55A-505A, Bridgewater, New Jersey 08807, USA KONSTANTINOV, Konstantin, c/o SANOFI55 Corporate DriveMail Code: 55A-505A, Bridgewater, New Jersey 08807, USA RYAKALA, Venkat Kishore, c/o SANOFI55 Corporate DriveMail Code: 55A-505A, Bridgewater, New Jersey 08807, USA ROHANI, Mahsa, c/o SANOFI55 Corporate DriveMail Code: 55A-505A, Bridgewater, New Jersey 08807, USA
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54) Title **STERILE CHROMATOGRAPHY AND MANUFACTURING PROCESSES**

(56) References

Cited:

WO-A1-2011/076386

WO-A1-03/045546

WO-A1-2011/078772

WO-A1-2011/152788

"Multimodal Chromatography - Handbook GE Healthcare Life Sciences imagination at work Multimodal Chromatography Handbook", , 17 December 2013 (2013-12-17), XP55180446, Retrieved from the Internet: URL:https://www.gelifesciences.com/gehcls_images/GELS/RelatedContent/Files/1384943366025/litdoc29054808_20131220222224.pdf [retrieved on 2015-03-31]
 PAUL K NG ET AL: "Regeneration Studies of Anion-Exchange Chromatography Resins", BIOPROCESS INTERNATIONAL, vol. 5, no. 5, 1 May 2007 (2007-05-01), pages 52-56, XP55181990,

"Capto Adhere - Affinity Chromatography", , 20 February 2012 (2012-02-20), XP55180451, Retrieved from the Internet: URL:<http://dfpcorec-p.internal.epo.org/wf/storage/14C6F91AEA20005F1B6/originalPdf> [retrieved on 2015-03-31]

GE HEALTHCARE: "Use of sodium hydroxide for cleaning and sanitizing chromatography media and systems", APPLICATION NOTE 18-1124-57 AF PROCESS CHROMATOGRAPHY, 1 September 2006 (2006-09-01), pages 1-8, XP055181453,

Ge Healthcare: "Ion Exchange Chromatography & Chromatofocusing Principles and Methods Ion Exchange Chromatography & Chromatofocusing - Principles and Methods imagination at work", , 1 January 2010 (2010-01-01), XP055137178, Retrieved from the Internet: URL:https://www.uni-ulm.de/uploads/media/Ion_exchange_chromatography_and_Chromatofocusing_02.pdf [retrieved on 2014-08-28]

GAGNON P: "Dissection of the Separation Mechanisms and Enhancement of Aggregate Removal by Charged-Hydrophobic Mixed Mode Chromatography", 6TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HIC AND RPC,, 16 March 2009 (2009-03-16), XP008146565,

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. En fremgangsmåte for å utføre kromatografi med en gamma-bestrålt anionisk byttekromatografiharpiks, som omfatter:

(a) å tilveiebringe en kromatografikolonne som inneholder en gamma-bestrålt anionisk byttekromatografiharpiks;

(b) å utføre en første kromatografisyklus gjennom kolonnen, hvor den første kromatografisyklusen omfatter gjenvinning av bindingskapasiteten av den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen ved å eksponere den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen til en denatureringsbuffer; og

(c) å utføre i det minste en ytterligere kromatografisyklus gjennom kolonnen,

hvor utførelsen av hver av den i det minste ene ytterligere kromatografisyklusen omfatter gjenvinning av bindingskapasiteten av den gamma-bestrålte kromatografiharpiksen ved å eksponere den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen til denatureringsbufferen, hvor denatureringsbufferen omfatter én eller flere av urea, guanidinhidroklorid og Triton™ X-100.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvor utførelse av den første kromatografisyklusen i trinn (b) og/eller i det minste en ytterligere kromatografisyklus i trinn (c) omfatter trinnene av:

(a) å fange opp et rekombinant protein ved å eksponere den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen med en væske som inneholder et rekombinant protein;

(b) vasking av den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen ved å eksponere den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen med en vaskebuffer;

(c) eluering av det rekombinante proteinet ved å eksponere den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen med en elueringsbuffer; og

(d) gjenvinning av bindingskapasiteten av den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen ved å eksponere den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen til denatureringsbufferen.

3. Fremgangsmåten ifølge krav 2, hvor væsken som inneholder det rekombinante proteinet er et flytende dyrkingsmedium.

5 **4.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvor den første kromatografisyklusen i trinn (b) og den i det minste ene ytterligere kromatografisyklusen i trinn (c) er utført ved bruk av et lukket og integrert system.

5. Fremgangsmåten ifølge krav 4, hvor denatureringsbufferen har et
10 sterilitetssikringsnivå på omtrent eller mindre enn 1×10^{-6} .

6. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvor den første kromatografisyklusen av trinn (b) videre omfatter, etter at den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen er eksponert til denatureringsbufferen, å eksponere den gamma-bestrålte anioniske
15 byttekromatografiharpiksen til en vaskebuffer, som omfatter ca. 0,5 M til ca. 1,5 M natriumhydroksid.

7. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvor kolonnen er en del av et
flerkolonnekromatografisystem (MCCS), f.eks. et periodisk motstrømkromatografisystem
20 (PCCS).

8. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvor den gamma-bestrålte anioniske byttekromatografiharpiksen er blitt behandlet med en dose av gamma-bestråling fra ca. 10 kGy til ca. 40 kGy.
25

9. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor trinn (c) omfatter å utføre fire eller flere ytterligere kromatografisykluser.

10. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvor trinn (c) utføres kontinuerlig over en periode på i
30 det minste 4 dager.

11. En integrert, lukket og kontinuerlig prosess for fremstilling av et rensset rekombinant protein, som omfatter:

(a) å tilveiebringe et flytende dyrkingsmedium, som omfatter et rekombinant protein som er i det vesentlige fritt av celler; og
35

(b) kontinuerlig mating av det flytende dyrkingsmediet inn i et flerkolonnekromatografisystem (MCCS), som omfatter i det minste én

kromatografikolonne, som inneholder en gamma-bestrålt anionisk byttekromatografiharpiks og som utfører i det minste to kromatografisykluser med i det minste én kromatografikolonne, hvor den i det minste ene kromatografikolonnen er eksponert til en denatureringsbuffer under hver av de i det minste to kromatografisyklusene;

hvor denatureringsbufferen har et sterilitetssikringsnivå på omtrent eller mindre enn 1×10^{-6} og omfatter én eller flere av urea, guanidinhydroklorid og Triton™ X-100, og hvor prosessen er integrert og løper kontinuerlig fra det flytende dyrkingsmediet til et eluat fra nevnte MCCS, som er det rensede rekombinante proteinet.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvor, i hver av de i det minste to kromatografisyklusene, etter eksponering av den i det minste ene kromatografikolonnen til denatureringsbufferen, blir den i det minste ene kromatografikolonnen eksponert til en vaskebuffer, som omfatter ca. 0,5 M til ca. 1,5 M natriumhydroksid.

13. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller 11, hvor denatureringsbufferen omfatter 6 M til 9 M urea.

14. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller 11, hvor denatureringsbufferen omfatter 5 M til 7 M guanidinhydroklorid.

15. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller 11, hvor denatureringsbufferen omfatter Triton™ X-100.

16. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller 11, hvor denatureringsbufferen er valgt fra gruppen bestående av:

8 M urea, 1 M NaCl, 0,1 M sitronsyre, pH 2,5;

6 M guanidinhydroklorid, pH 2,5; og

0,5% Triton™ X-100 i 0,1 M edikksyre, pH 2,5.