



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3113858 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
B01D 15/32 (2006.01)
B01D 15/36 (2006.01)
C07K 1/18 (2006.01)
C07K 1/20 (2006.01)
C07K 1/36 (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.08.31
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.05.06
(86)	European Application Nr.	15708730.5
(86)	European Filing Date	2015.03.03
(87)	The European Application's Publication Date	2017.01.11
(30)	Priority	2014.03.03, EP, 14000742
(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	Cytune Pharma, 3 chemin Pressoir Chenaie, 44100 Nantes, Frankrike
(72)	Inventor	BECHARD, David, Le Courtil Lieu-Dit L'Ornière, F-44360 Saint-Etienne de Montluc, Frankrike DE MARTYNOFF, Guy, 10 rue de l'Orne, B-1435 Mont-St-Guibert, Belgia
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	IL-15/IL-15RALPHA BASED CONJUGATES PURIFICATION METHOD
(56)	References Cited:	MORTIER ERWAN ET AL: "Soluble interleukin-15 receptor alpha (IL-15R alpha)-sushi as a selective and potent agonist of IL-15 action through IL-15R beta/gamma. Hyperagonist IL-15 x IL-15R alpha fusion proteins", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 281, no. 3, 20 January 2006 (2006-01-20), pages 1612-1619, XP002394330, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M508624200 BOUCHAUD G ET AL: "The Exon-3-Encoded Domain of IL-15Ralpha Contributes to IL-15 High- Affinity Binding and Is Crucial for the IL-15 Antagonistic Effect of Soluble IL-15Ralpha", JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, ACADEMIC PRESS, UNITED KINGDOM, vol. 382, no. 1, 26 September 2008 (2008-09-26), pages 1-12, XP023906552, ISSN: 0022-2836, DOI: 10.1016/J.JMB.2008.07.019 [retrieved on 2008-07-16] ANNE BESSARD ET AL: "High antitumor activity of RLI, an interleukin-15 (IL-15)-IL-15 receptor

alpha fusion protein, in metastatic melanoma and colorectal cancer", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, AMERICAN ASSOCIATION OF CANCER RESEARCH, US, vol. 8, no. 9, 1 September 2009 (2009-09-01), pages 2736-2745, XP002636846, ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0275

KAI-PING HAN ET AL: "IL-15:IL-15 receptor alpha superagonist complex: High-level co-expression in recombinant mammalian cells, purification and characterization", CYTOKINE, ACADEMIC PRESS LTD, PHILADELPHIA, PA, US, vol. 56, no. 3, 28 September 2011 (2011-09-28), pages 804-810, XP028115119, ISSN: 1043-4666, DOI: 10.1016/J.CYTO.2011.09.028 [retrieved on 2011-10-03]

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 fremstilling av en sammensetning omfattende monomere konjugater fra en prøve, der konjugatet omfatter:

- 5 a) et polypeptid omfattende aminosyresekvensen til interleukin 15, og
b) et polypeptid omfattende aminosyresekvensen til sushidomenet til IL-15R α ;
der konjugatet har en aminosyresekvens bestående av SEQ ID NR: 16 eller SEQ ID NR: 17,
hvor fremgangsmåten omfatter bruk av anionbytter (AEX)-kromatografi utført ved en
10 pH lik eller høyere enn 7,0,
etterfulgt av en hydrofob interaksjon (HIC)-kromatografi på prøven utført i en
bufferløsning inneholdende et ammoniumsalt,
hvor prøven tilsvarer en prøve av et kulturmedium til en transformert vertscelle som
uttrykker konjugatet, hvor vertscellen tilsvarer en pattedyrscelle valgt i gruppen
15 omfattende CHO-celler, HEK293-celler, COS-celler, PER.C6®-celler, SP20-celler, NSO-celler eller hvilke som helst celler avledet fra disse, fortrinnsvis CHO-celler.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor fremgangsmåten omfatter trinnene:

- a) å utsette prøven for AEX-kromatografi for å danne et første eluat; og
20 b) å utsette det første eluatet for HIC-kromatografi for å danne et andre eluat.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 2, hvor trinn a) med AEX-kromatografi utføres ved å
bruke AEX-kolonne eller resin valgt fra gruppen omfattende Q Sepharose, slik som Q
25 Sepharose Fast Flow, Q Sepharose XL, Q Sepharose Big Beads, Q sepharose High Performance, Q sepharose XL; DEAE Sephadex A-25, DEAE Sephadex A-50, QAE Sephadex A-25, QAE Sephadex A-50, Sourse 15Q, Sourse 30Q, Resourse Q, Capto Q, Capto DEAE, Mono Q, Toyopearl Super Q, Toyopearl DEAE, Toyopearl QAE, Toyopearl Q, Toyopearl GigaCap Q, TSKgel SuperQ, TSKgel DEAE, Fractogel EMD TMAE,
30 Fractogel EMD TMAE HiCap, Fractogel EMD DEAE, Fractogel EMD DMAE, Macrorep High Q, Macro-prep-DEAE, Unosphere Q, Nuvia Q, POROS HQ, POROS PI, DEAE Ceramic HyperD, Q Ceramic HyperD, DEAE Sepharose Fast Flow, og ANX Sepharose 4 Fast Flow.

- 35 4. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 2 eller 3, hvor, for trinn a) å utsette prøven for AEX-kromatografi, påføringstrinnet utføres i en bufferløsning med

en pH lik eller høyere enn 7,5.

5. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor elueringstrinnet i AEX-kromatografien utføres i en gradient ved bruk av saltvannsbuffer fra 1 til 0 M NaCl, fortrinnsvis fra 0,75 til 0 M NaCl.

6. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 2 til 5, hvor, for trinn b) å utsette prøven for HIC-kromatografi, påføringstrinnet realiseres ved å blande det første eluatet med påføringsbufferen direkte ved kromatografien.

7. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor bufferløsningen som inneholder et ammoniumsalt omfatter 0,75 M til 2,5 M ammoniumsulfat, fortrinnsvis 1 M til 2 M ammoniumsulfat, og mest foretrukket 1,5 til 2 M ammoniumsulfat.

8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 7, hvor ammoniumsulfat blandes direkte med det første eluatet på HIC-kromatografikolonnen eller resinet.

9. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor fremgangsmåten videre omfatter trinnet å anvende det oppnådde konjugatet for fremstilling av et medikament.

10. Farmasøytisk sammensetning som kan oppnås ved fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvor sammensetningen omfatter minst 80% monomere konjugater, der konjugatene har en aminosyresekvens bestående av SEQ ID NR: 16 eller SEQ ID NR: 17.

11. Sammensetning ifølge krav 10 for anvendelse ved behandling av en kreftsykdom hos et individ.