



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3219795 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 9/16 (2006.01)
A61K 38/46 (2006.01)
C12P 21/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.07.15
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.03.13
(86)	European Application Nr.	16203748.5
(86)	European Filing Date	2009.01.16
(87)	The European Application's Publication Date	2017.09.20
(30)	Priority	2008.01.18, US, 22179 P 2008.09.23, US, 99373 P 2008.10.31, US, 110246 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 ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; TR
(62)	Divided application	EP2245145, 2009.01.16
(73)	Proprietor	BioMarin Pharmaceutical Inc., 105 Digital Drive, Novato, CA 94949, USA
(72)	Inventor	VELLARD, Michel Claude, 191 Oak Drive, San Rafael, CA 94901, USA KOPPAKA, Vish, c/o Ultragenyx Pharmaceutical Inc. 60 Leveroni Ct., Novato, CA 94949, USA DVORAK-EWELL, Melita, 1268 12th Avenue, San Francisco, CA 91422, USA PUNGNOR, Erno, 250 Castenada Drive, Milbrae, CA 94030, USA HAGUE, Charles, c/o BioMarin Pharmaceutical Inc. 105 Digital Drive, Novato, CA 94949, USA
(74)	Agent or Attorney	RWS, Europa House, Chiltern Park, Chiltern Hill, SL99FG CHALFONT ST PETER, Storbritannia

(54)	Title	MANUFACTURE OF ACTIVE HIGHLY PHOSPHORYLATED HUMAN LYSOSOMAL SULFATASE ENZYMES AND USES THEREOF
(56)	References Cited:	WO-A2-2005/113765 WO-A-2005/077093 TOMATSU SHUNJI ET AL: "Enzyme replacement therapy in a murine model of Morquio A syndrome.", HUMAN MOLECULAR GENETICS 15 MAR 2008, vol. 17, no. 6, 3 December 2007 (2007-12-03), pages 815-824, XP002542179, ISSN: 1460-2083 COSMA M P ET AL: "The multiple sulfatase deficiency gene encodes an essential and limiting factor for the activity of sulfatases", CELL, CELL PRESS, CAMBRIDGE, NA, US, vol. 113, no. 4, 16 May 2003 (2003-05-16), pages 445-456, XP001155603, ISSN: 0092-8674 TAKAKUSAKI YUKIKO ET AL: "Coexpression of formylglycine-generating enzyme is essential for synthesis and secretion of functional arylsulfatase A in a mouse model of metachromatic leukodystrophy.", HUMAN GENE THERAPY AUG 2005, vol. 16, no. 8, August 2005 (2005-08), pages 929-936, XP002521335, ISSN: 1043-0342

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 et aktivt svært fosforylert rekombinant humant lysosomalt sulfataseenzym, omfattende trinnene:

- 5 (a) å dyrke en kinesisk hamsterovarie (CHO)-utledet END3-komplementeringsgruppecelle eller derivat derav som er defekt i endosomal surgjøring;
- (b) å fremstille en første pattedyrekspresjonsvektor som er i stand til å uttrykke det aktive svært fosforylerte rekombinante humane lysosomale sulfataseenzymet i END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav som er defekt i endosomal
- 10 surgjøring;
- (c) å fremstille en andre pattedyrekspresjonsvektor som er i stand til å uttrykke rekombinant human sulfatasemodifiserende faktor 1 (SUMF1) i END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav som er defekt i endosomal surgjøring;
- 15 (d) å transfekte END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav som er defekt i endosomal surgjøring med den første og den andre ekspresjonsvektoren;
- (e) å velge og klonе en transfektant av END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav som er defekt i endosomal surgjøring som uttrykker det aktive svært fosforylerte rekombinante humane lysosomale sulfataseenzymet; og
- 20 (f) å optimalisere en cellekulturprosessfremgangsmåte for fremstilling av det svært fosforylerte rekombinante humane lysosomale sulfataseenzymet,
- hvor det rekombinante humane lysosomale sulfataseenzymet velges fra gruppen som består av arylsulfatase A (ARSA), arylsulfatase B (ARSB), iduronat-2-sulfatase (IDS), sulfamidase/heparin-N-sulfatase (SGSH), N-acetylglukosamin-sulfatase (G6S) og N-
- 25 acetylgalaktosamin-6-sulfatase (GALNS), og hvori fremgangsmåten fremstiller et enzym som har minst 50 % omdannelse av det aktive setets cysteinrest til Ca-formylglysin (FG1y); og har mer enn 0,5 bis-fosforylerte oligomannosekjeder per proteinkjede.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den første og den andre ekspresjonsvektoren
- 30 transfekteres inn i END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav i trinn (d) samtidig eller sekvensielt.

3. Aktivt svært fosforylert rekombinant humant lysosomalt sulfataseenzym fremstilt av fremgangsmåten ifølge krav 1 eller krav 2.

35

4. Farmasøytisk sammensetning omfattende det lysosomale sulfataseenzymet ifølge krav 3 og én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller eksipienser.

5. Fremgangsmåte for fremstilling av et aktivt svært fosforylert rekombinant humant N-acetylgalaktosamin-6-sulfatase (GALNS)-enzym, omfattende trinnene:
- (a) å dyrke en kinesisk hamsterovarie (CHO)-utledet END3-komplementeringsgruppecelle eller derivat derav som er defekt i endosomal surgjøring;
- (b) å fremstille en første pattedyrekspresjonsvektor som er i stand til å uttrykke det aktive svært fosforylerte rekombinante humane GALNS egnet for END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav som er defekt i endosomal surgjøring;
- (c) å fremstille en andre pattedyrekspresjonsvektor som er i stand til å uttrykke rekombinant human sulfatasemodifiserende faktor 1 (SUMF1) egnet for END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav som er defekt i endosomal surgjøring;
- (d) å transfektere END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav som er defekt i endosomal surgjøring med den første og den andre ekspresjonsvektoren;
- (e) å velge og klonere en transfektant av END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav som er defekt i endosomal surgjøring som uttrykker det aktive svært fosforylerte rekombinante humane GALNS; og
- (f) å optimalisere en cellekulturprosessfremgangsmåte for fremstilling av det aktive svært fosforylerte rekombinante humane GALNS
- hvor fremgangsmåten fremstiller et enzym som har minst 50 % omdannelse av cysteinresten i posisjon 53 til Ca-formylglysin (FGly); og har mer enn 0,5 bis-fosforylerte oligomannosekjeder per proteinkjede.
6. Fremgangsmåten ifølge krav 5, hvori den første og den andre ekspresjonsvektoren transfekteres inn i END3-komplementeringsgruppecellen eller derivatet derav i trinn (d) samtidig eller sekvensielt.
7. Svært aktivt svært fosforylert rekombinant humant N-acetylgalaktosamin-6-sulfatase (GALNS)-enzym fremstilt med fremgangsmåten ifølge krav 5 eller krav 6.
8. Farmasøytisk sammensetning omfattende det rekombinante humane N-acetylgalaktosamin-6-sulfatase (GALNS)-enzymet ifølge krav 7 og én eller flere farmasøytisk akseptable bærere, fortynningsmidler eller eksipienser.
9. Rekombinant humant lysosomalt sulfataseenzym ifølge krav 3 fremstilt av en CHO-utledet END3-komplementeringsgruppecelle eller et derivat derav som er defekt i endosomal surgjøring som uttrykker human sulfatasemodifiserende faktor 1 (SUMF1) for

anvendelse i behandlingen av et individ som lider av en mangel på et lysosomalt sulfataseenzym, hvori den lysosomale sulfataseenzymmangelen velges fra gruppen som består av metakromatisk leukodystrofi (MLD), mukopolysakkaridose type VI (MPS VI) eller Maroteaux-Lamy syndrom, mukopolysakkaridose type II (MPS II) eller Hunters syndrom, 5 mukopolysakkaridose type IIIa (MPS IIIa) eller Sanfilippo A-syndrom, mukopolysakkaridose type IIIId (MPS IIIId) eller Sanfilippo D-syndrom, og mukopolysakkaridose type IVa (MPS IVa) eller Morquio A-syndrom.

10. Rekombinant human N-acetylgalaktosamin-6-sulfatase (GALNS)-enzym ifølge krav 10 7 fremstilt av en CHO-utledet END3-komplementeringsgruppecelle eller et derivat derav som er defekt i endosomal surgjøring som uttrykker human sulfatasemodifiserende faktor 1 (SUMF1) for anvendelse i behandlingen av en lysosomal lagringssykdom som er forbundet med en mangel på ett eller flere lysosomale sulfataseenzymer, hvori den lysosomale lagringssykdommen er multippel sulfatasemangel (MSD).