



NORWAY

(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3227454 B1

(19) NO
(51) Int Cl.
C12P 21/00 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
C07K 14/00 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.06.02
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.01.29
(86)	European Application Nr.	15816598.5
(86)	European Filing Date	2015.12.01
(87)	The European Application's Publication Date	2017.10.11
(30)	Priority	2014.12.01, US, 201462085759 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
	Designated Validation States:	MA ; MD
(73)	Proprietor	Amgen Inc., One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, CA 91320-1799, USA
(72)	Inventor	LEISKE, Daniel R., 305 SE Bush Street, Issaquah, Washington 98027, USA TRENTALANGE, Michael T., 950 20th Avenue East, Seattle, Washington 98112, USA
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	PROCESS FOR MANIPULATING THE LEVEL OF GLYCAN CONTENT OF A GLYCOPROTEIN
(56)	References Cited:	WO-A1-2013/114164 WO-A1-2013/114245 US-A1- 2012 276 631 GRAMER M J ET AL: "Modulation of Antibody Galactosylation Through Feeding of Uridine, Manganese Chloride, and Galactose", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, WILEY & SONS, HOBOKEN, NJ, US, vol. 108, no. 7, July 2011 (2011-07), pages 1591-1602, XP002688515, ISSN: 0006-3592, DOI: 10.1002/BIT.23075 [retrieved on 2011-02-18]

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 manipulere det fucosylerte glykan innholdet på et rekombinant protein omfattende
5 å inokulere en bioreaktor med pattedyr vertsceller som uttrykker det rekombinante protein, å dyrke de pattedyr vertscellene i et serumfritt, kjemisk definert cellekulturmedium; hvor cellekulturmediet inkluderer fra 10 til 100 ppb kobber og fra 50 til 1000 nM mangan, ved pH 7,0,
10 å høste det rekombinante proteinet som er produsert av vertscellen, hvor nivået av afucosylerte glykaner på det rekombinante proteinet øker sammenlignet med det afucosylerte glykan nivået oppnådd i det samme cellekulturmediet ved en lavere pH.
- 15 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, som videre omfatter en økning i nivået av β -galactosylering på det rekombinante proteinet.
3. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor konsentrasjonen av kobber er 100 ppb.
- 20 4. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor konsentrasjonen av mangan er 1000 nM.
5. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor det fucosylerte glykan innholdet styres for å øke nivået av afucosylerte og beta-galactosylerte glykaner uten å påvirke ytelsen av cellekulturen.
- 25 6. Fremgangsmåte ifølge krav 1, som videre omfatter et temperaturskifte, hvor temperaturskiftet er
 - a) fra 36 °C til 31 °C eller
 - b) oppstår ved overgangen mellom vekstfase og produksjonsfase, eller
 - 30 c) oppstår i produksjonsfasen.
7. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den pattedyr vertscellen som uttrykker det rekombinante proteinet, dyrkes i en satskultur, mate satskultur, perfusjon kultur eller kombinasjoner derav.
- 35 8. Fremgangsmåte ifølge krav 7, hvor kulturen er en perfusjon kultur.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor perfusjonen
 - a) omfatter kontinuerlig perfusjon, eller

- b) er konstant, eller
- c) utføres med en hastighet på mindre enn eller lik 1,0 arbeidsvolum per dag, eller
- d) oppnås ved vekslende tangensial strømning.

5 10. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor bioreaktoren har en kapasitet på

- a) i det minste 500L, eller
- b) 500L til 2000L, eller
- c) 1000L til 2000L.

10 11. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor bioreaktoren er inokulert med i det minste $0,5 \times 10^6$ celler/ml.

12. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor det serumfrie kjemisk definerte cellekulturmedium er et perfusjon cellekulturmedium.

15

13. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor vertscellene er Chinese Hamster Ovary (CHO) celler.

14. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor det rekombinante proteinet er

20

- a) et glykoprotein, eller
- b) er valgt fra gruppen bestående av et humant antistoff, et humanisert antistoff, et kimært antistoff, et rekombinant fusjonsprotein eller et cytokin.

15. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor det rekombinante proteinet som er produsert av
25 vertscellen blir rensset og formulert til en farmasøytisk akseptabel formulering.