



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3337820 B1

NORWAY

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

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.01.25
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.10.14
(86)	European Application Nr.	16766389.7
(86)	European Filing Date	2016.08.17
(87)	The European Application's Publication Date	2018.06.27
(30)	Priority	2015.08.17, IN, 3118MU2015
(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	Lupin Limited, Kalpataru Inspire 3rd Floor Off Western Express Highway Santacruz (East) Maharashtra, Mumbai 400 055, India
(72)	Inventor	SOMANI, Sandeep, Lupin Limited(Biotechnology Division)Gate No. 1156Ghotawade VillageMulshi Taluka, PuneMaharashtra 412115, India PANDEY, Ashish, Lupin Limited(Biotechnology Division)Gate No. 1156Ghotawade VillageMulshi Taluka, PuneMaharashtra 412115, India MISHRA, Ashok, Lupin Limited(Biotechnology Division)Gate No. 1156Ghotawade VillageMulshi Taluka, PuneMaharashtra 412115, India MODY, Rustom, Sorab, Lupin Limited(Biotechnology Division)Gate No. 1156Ghotawade VillageMulshi Taluka, PuneMaharashtra 412115, India
(74)	Agent or Attorney	AWA NORWAY AS, c/o Regus Business Center Aker brygge, Postboks 1433 Vika, 0115 OSLO, Norge

(54)	Title	AN IMPROVED REFOLDING PROCESS FOR ANTIBODY'S FRAGMENTS
(56)	References Cited:	WO-A2-2014/178078 WO-A2-2006/058890

CABRITA L D ET AL: "PROTEIN EXPRESSION AND REFOLDING - A PRACTICAL GUIDE TO GETTING THE MOST OUT OF INCLUSION BODIES", BIOTECHNOLOGY ANNUAL RE, ELSEVIER, NL, vol. 10, no. SPEC. ISSUE, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 31-50, XP009045245, ISSN: 1387-2656, DOI: 10.1016/S1387-2656(04)10002-1

ARAKAWA T ET AL: "Refolding technologies for antibody fragments", ANTIBODIES 20140523 MDPI AG CHE, vol. 3, no. 2, 23 May 2014 (2014-05-23), pages 232-241, XP002763729, ISSN: 2073-4468

WIBBENMEYER J A ET AL: "Cloning, expression, and characterization of the Fab fragment of the anti-lysozyme antibody HyHEL-5", BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. PROTEIN STRUCTURE AND MOLECULAR ENZYMOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM; NL, vol. 1430, no. 2, 19 March 1999 (1999-03-19), pages 191-202, XP004278616, ISSN: 0167-4838, DOI: 10.1016/S0167-4838(98)00285-4

T. FUJII ET AL: "Stable Supply of Large Amounts of Human Fab from the Inclusion Bodies in E. coli", JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, vol. 141, no. 5, 21 February 2007 (2007-02-21), pages 699-707, XP055315918, GB ISSN: 0021-924X, DOI: 10.1093/jb/mvm075

BERNARDEZ CLARK DE E ED - JIN YONG-SU ET AL: "Refolding of recombinant proteins", CURRENT OPINION IN BIOTECHNOLOGY, LONDON, GB, vol. 9, no. 2, 1 April 1998 (1998-04-01), pages 157-163, XP002275588, ISSN: 0958-1669, DOI: 10.1016/S0958-1669(98)80109-2

LEE MYUNG-HOON ET AL: "Expression and functional reconstitution of a recombinant antibody (Fab') specific for human apolipoprotein B-100", JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 101, no. 2, 6 March 2003 (2003-03-06), pages 189-198, XP002368247, ISSN: 0168-1656, DOI: 10.1016/S0168-1656(02)00317-6

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/>

KRAV

1. En fremgangsmåte for gjenvinning av gjenfoldet Ranibizumab, der fremgangsmåten omfatter trinnene av;
- 5 a) å isolere inklusjonslegemer omfattende en lett-kjede og tung-kjede av Ranibizumab fra den bakterielle vertscellen;
- b) å solubilisere inklusjonslegemene omfattende en lett-kjede og/eller tung-kjede av Ranibizumab i en første bufret løsning omfattende 10 mM til 60 mM Tris-Cl, 6M til 8M Urea og DTT ved en pH i området fra 8,5 til 10:
- 10 c) å gjenfolde den solubiliserte lett-kjeden og tung-kjeden av Ranibizumab i en andre bufferløsning omfattende 0,1M til 1M Arginin, 1% til 8% sorbitol og 10 mM til 60 mM Tris_ med en pH i området 10 til 11 og temperatur i området 4°C til 12°C for en første inkubasjonsperiode på 1 til 25 timer og deretter forskyve pH og temperatur for første inkubasjonsperiode til en pH og temperatur i området 8 til 9 og en temperatur i området 20°C til
- 15 30°C for en andre inkubasjonsperiode på 1 til 25 timer; og
- d) å gjenopprette den gjenfoldede Ranibizumab.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den andre bufferløsningen i trinn (c) holdes ved pH 10 under den første inkubasjonsperioden.
- 20 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den andre bufferløsningen i trinn (c) holdes ved en temperaturen i området fra 5°C til 10°C i under den første inkubasjonsperioden.
- 25 4. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den første inkubasjonsperioden er 4 timer.
5. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den andre bufferløsningen i trinn (c) holdes ved pH 9 under den andre inkubasjonsperioden.

2

6. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den andre bufferløsningen i trinn (c) holdes ved temperatur fra 20°C til omtrent 25°C under den andre inkubasjonsperioden.

5 7. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den andre inkubasjonsperioden er 14 timer.

8. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den første bufferløsningen i trinn (b) holdes ved pH 9.

10

9. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvori det gjenvunne, gjenfoldede Ranibizumab ytterligere renses ved anionisk eller kationisk kromatografi.