



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3434760 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 1/38 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C12N 5/00 (2006.01)
C12P 21/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.07.17
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.04.26
(86)	European Application Nr.	18194714.4
(86)	European Filing Date	2014.03.10
(87)	The European Application's Publication Date	2019.01.30
(30)	Priority	2013.03.14, US, 201361784639 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	Amgen Inc., One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, CA 91320-1799, USA
(72)	Inventor	WU, Jian, 3117 216th Place SE, Bothell, WA 98021, USA DAVERN, Sean, 2929 1st Avenue Unit 401, Seattle, WA 98121, USA PETROVAN, Simina, Crina, 23819 23rd Avenue West, Bothell, WA 98021, USA BRANDENSTEIN, Michael, Charles, 14704 204th Place NE, Woodinville, WA 98077, USA LINDAHL, Katherine, Rose, 35 Pinckney St., Unit 2, Somerville, MA 02145, USA LILLIE, Shawn, Erik, 2418 43rd Avenue SE, Puyallup, WA 98374, USA
(74)	Agent or Attorney	RWS, Europa House, Chiltern Park, Chiltern Hill, SL99FG CHALFONT ST PETER, Storbritannia

(54)	Title	METHODS FOR INCREASING MANNOSE CONTENT OF RECOMBINANT PROTEINS
(56)	References Cited:	WO-A2-2004/008100, JP-A- H06 292 592, WO-A2-2012/149197, WO-A1-99/28455 WONG DANNY CHEE FURNG ET AL: "Impact of dynamic online fed-batch strategies on metabolism, productivity and N-glycosylation quality in CHO cell cultures", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, WILEY & SONS, HOBOKEN, NJ, US, vol. 89, no. 2, 20 January 2005 (2005-01-20), pages 164-177, XP009142862, ISSN: 0006-3592 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, 1 July 2011 (2011-07-01), pages 1591-1602, XP002688515, ISSN: 0006-3592, DOI: 10.1002/BIT.23075 [retrieved on 2011-02-18] JAMES 1 REARICKS ET AL: "Glucose Starvation Alters Lipid-linked Oligosaccharide Biosynthesis in Chinese Hamster Ovary Cells", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 256, no. 12, 25 June 1981 (1981-06-25), pages 6255-6261, XP055124811,

HILLS A E ET AL: "METABOLIC CONTROL OF RECOMBINANT MONOCLONAL ANTIBODY N-GLYCOSYLATION IN GS-NS0 CELLS", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, WILEY & SONS, HOBOKEN, NJ, US, vol. 75, no. 2, 20 October 2001 (2001-10-20), pages 239-251, XP001206784, ISSN: 0006-3592, DOI: 10.1002/BIT.10022

EFREN PACIS ET AL: "Effects of cell culture conditions on antibody N-linked glycosylation-what affects high mannose 5 glycoform", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, vol. 108, no. 10, 1 October 2011 (2011-10-01), pages 2348-2358, XP055080567, ISSN: 0006-3592, DOI: 10.1002/bit.23200

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. Framgangsmåte for å modulere mannose 5 på et rekombinant protein under en pattedyrcellekulturprosess, som omfatter å begrense mengden glukose i
5 cellekulturmediet, der konsentrasjonen av glukosen er fra ca. 0 til 3 g/L, og å supplementere cellekulturmediet med galaktose, der konsentrasjonen av galaktose er fra 10 til 15 g/L, og der cellekulturprosessen er en perfusjonsprosess.
2. Framgangsmåte ifølge krav 1, der glukosekonsentrasjonen i cellekulturmediet er
10 tilstrekkelig til å gi en konsentrasjon av glukose i det brukte mediet på eller på ca. 0 g/L.
3. Framgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, der konsentrasjonen av glukose i cellekulturmediet er fra 1 til 3 g/L.
- 15 4. Framgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, der konsentrasjonen av glukose i cellekulturmediet er fra 2 til 3 g/L.
5. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–4, der konsentrasjonen av glukose i cellekulturmediet er 2,5 g/L.
20
6. Framgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, der konsentrasjonen av glukose i cellekulturmediet er 0 g/L.
7. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–6, der konsentrasjonen av galaktose i
25 cellekulturmediet er fra 10 til 12 g/L.
8. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–7, der konsentrasjonen av galaktose i cellekulturmediet er 11,5 g/L.
- 30 9. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–8, der den begrensende mengden med glukose blir tilsatt under en produksjonsfase.
10. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–9, der pattedyrcellene er eggstokkceller fra kinesisk dverghamster (CHO).
35
11. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–10, der det rekombinante proteinet er valgt fra gruppen som består av et humant antistoff, et humanisert antistoff, et kimært antistoff, et rekombinant fusjonsprotein, eller et cytokin.

12. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–11, som ytterligere omfatter et trinn med å høste inn det rekombinante proteinet som er produsert av cellekulturen.
- 5 13. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–12, der det rekombinante proteinet som er produsert av cellekulturen, blir rensset og formulert i en farmasøytisk akseptabel formulering.
- 10 14. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–13, der produksjonen av rekombinant protein i mannose 5-spesies økes sammenliknet med en kultur der cellene ikke er underlagt begrenset glukose i kombinasjon med galaktose.
- 15 15. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–14, der cellekulturmediet inneholder glutamin i intervallet fra 1 til 20 mM eller i intervallet fra 5 til 10 mM.
16. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–15, der perfusjonen blir oppnådd ved alternerende tangentialstrømning.
- 20 17. Framgangsmåte ifølge krav 16, der perfusjonen blir oppnådd ved alternerende tangentialstrømning ved hjelp av et ultrafilter eller et mikrofilter.
18. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–10 og 12–17, der det rekombinante proteinet er et antistoff.
- 25 19. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1–18, der det rekombinante proteinet er valgt fra gruppen av antistoffer som består av: adalimumab, bevacizumab, infliksimab, abciksimab, alemtuzumab, bapineuzumab, basiliksimab, belimumab, briakinumab, canakinumab, certolizumab pegol, cetuksimab, conatumumab, denosumab, ekulizumab, gemtuzumab, ozogamicin, golimumab, ibritumomabtiuksetan, labetuzumab, mapatumumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, muromonab-CD3, 30 natalizumab, nimotuzumab, ofatumumab, omalizumab, oregovomab, palivizumab, panitumumab, pemtumomab, pertuzumab, ranibizumab, rituksimab, rovelizumab, tocilizumab, tositumomab, trastuzumab, ustekinumab, vedolizomab, zalutumumab og zanolimumab.