



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3500856 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
G01N 33/68 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45) Translation Published 2021.02.22

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2020.10.07

(86) European Application Nr. 17761159.7

(86) European Filing Date 2017.08.18

(87) The European Application's Publication Date 2019.06.26

(30) Priority 2016.08.18, US, 201662376788 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

(73) Proprietor Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA

(72) Inventor MARLOW, Michael, 11 Park Place Apt. 409, New Rochelle, New York 10801, USA
SENNETT, Michael, 182 Powder House Boulevard, Somerville, Massachusetts 02144, USA
SCHNEIDER, Michael, c/o Regeneron Pharmaceuticals Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591, USA

(74) Agent or Attorney ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **ASSAY FOR DETERMINING POTENTIAL TO SELF-ASSOCIATION OF A PROTEIN USING CONCENTRATION-DEPENDENT SELF-INTERACTION NANOPARTICLE SPECTROSCOPY**

(56) References Cited:
WO-A1-2016/115475
STEVEN B. GENG ET AL: "Facile Preparation of Stable Antibody-Gold Conjugates and Application to Affinity-Capture Self-Interaction Nanoparticle Spectroscopy", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, vol. 27, no. 10, 5 August 2016 (2016-08-05), pages 2287-2300, XP055407798, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00207
SHANTANU V. SULE ET AL: "Solution pH That Minimizes Self-Association of Three Monoclonal Antibodies Is Strongly Dependent on Ionic Strength", MOLECULAR PHARMACEUTICS, vol. 9, no. 4, 2 April 2012 (2012-04-02), pages 744-751, XP055160468, ISSN: 1543-8384, DOI: 10.1021/mp200448j
JIEMIN WU ET AL: "Discovery of highly soluble antibodies prior to purification using affinity-capture self-interaction nanoparticle spectroscopy", PROTEIN ENGINEERING, DESIGN AND SELECTION, vol. 28, no. 10, 12 September 2015 (2015-09-12), pages 403-414, XP055340754, GB ISSN: 1741-0126, DOI: 10.1093/protein/gzv045

PETER M. TESSIER ET AL: "Self-Interaction Nanoparticle Spectroscopy: A Nanoparticle-Based Protein Interaction Assay", JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 130, no. 10, 1 March 2008 (2008-03-01), pages 3106-3112, XP055407816, US ISSN: 0002-7863, DOI: 10.1021/ja077624q

STEVEN B. GENG ET AL: "Measurements of Monoclonal Antibody Self-Association Are Correlated with Complex Biophysical Properties", MOLECULAR PHARMACEUTICS, vol. 13, no. 5, 2 May 2016 (2016-05-02), pages 1636-1645, XP055407800, US ISSN: 1543-8384, DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.6b00071

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/>

EP3500856

1

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for bestemmelse av et proteins potensial for selvassosiering, idet fremgangsmåten omfatter:

- 5 a. å kombinere et protein, en nanopartikkel og et bufret salt for å danne en prøve;
- b. å eksitere prøven med lys;
- c. å måle lyset som sendes gjennom prøven, ved flere bølgelengder i området fra 450 nm til cirka 750 nm;
- 10 d. å beregne absorpsjonsintensitetsforholdet for prøven, hvor absorpsjonsintensitetsforholdet er forholdet av absorpsjonsintensitet ved den maksimale absorpsjon (λ_{\max}) til den innledende absorpsjon ved 450 nm; hvor proteinet er stabilt ved høy konsentrasjon når absorpsjonsintensitetsforholdet overstiger 1,7.

15 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor:

- (i) proteinet er et antigenbindende protein, fortrinnsvis hvor det antigenbindende protein er et antistoff, et antistoffragment eller et reseptor-Fc-fusjonsprotein, mer foretrukket hvor det antigenbindende protein er et humant monoklonalt antistoff;
- 20 (ii) proteinet er i prøven ved en konsentrasjon på cirka 2 $\mu\text{g/mL}$ til cirka 512 $\mu\text{g/mL}$;
- (iii) nanopartikkelen er en gullnanopartikkel, fortrinnsvis hvor gullnanopartikkelen har en diameter på cirka 20 nm til cirka 100 nm, mer foretrukket hvor gullnanopartikkelens diameter er cirka 20 nm;
- 25 (iv) prøven omfatter cirka 5×10^{11} til cirka 8×10^{11} nanopartikler per mL, fortrinnsvis hvor prøven omfatter cirka $6-6,5 \times 10^{11}$ nanopartikler per mL; og/eller
- (v) saltet er til stede i prøven ved en konsentrasjon på cirka 2 mM til cirka 250 mM, fortrinnsvis hvor saltet er natriumklorid, mer foretrukket hvor saltkonsentrasjonen er cirka 2 mM, cirka 20 mM eller cirka 200 mM.
- 30

EP3500856

2

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, som videre omfatter å gjenta trinn (a) – (d) under anvendelse av en annen proteinkonsentrasjon i prøven.
4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, som videre omfatter
5 å gjenta trinn (a) – (d) under anvendelse av en annen saltkonsentrasjon i prøven.
5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, som videre omfatter å gjenta trinn (a) – (d) under anvendelse av en annen pH-verdi i prøven.
- 10 6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, som videre omfatter:
e. å kombinere det lettløselige protein i en høy konsentrasjon med et hjelpestoff for å danne et formulert legemiddelstoff.
7. Fremgangsmåte ifølge krav 6, hvor konsentrasjonen av proteinet er cirka 50
15 mg/mL til cirka 500 mg/mL.
8. Fremgangsmåte ifølge krav 7, hvor hjelpestoffet velges fra gruppen bestående av et tonisitettsmiddel, en buffer, et tensid, en stabilisator og en kombinasjon derav, fortrinnsvis hvor tonisitettsmiddelet er et salt, mer foretrukket hvor saltet er NaCl.
20
9. Fremgangsmåte for fremstilling av en lavviskøs farmasøytisk formulering som inneholder et protein, idet fremgangsmåten omfatter:
- a. å bestemme proteinets potensial for selvassosiering ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8;
- 25 b. å kombinere et viskositetsreducerende hjelpestoff med proteinet;
- c. å bestemme proteinets potensial for selvassosiering ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8 i nærvær av det viskositetsreducerende hjelpestoff; og
- d. å formulere proteinet med det viskositetsreducerende hjelpestoff på et nivå som reduserer proteinløsningens viskositet med i det minste 50%
30 sammenlignet med uten det viskositetsreducerende hjelpestoff.

EP3500856

3

10. Fremgangsmåte ifølge krav 9, hvor det viskositetsreducerende hjælpestoff er paraaminobenzosyre (PABA).