



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3521422 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61P 43/00 (2006.01)
A61P 7/02 (2006.01)
C12N 9/64 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

- (45) Translation Published 2022.01.17
- (80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2021.10.06
- (86) European Application Nr. 19163119.1
- (86) European Filing Date 2008.12.19
- (87) The European Application's Publication Date 2019.08.07
- (30) Priority 2007.12.31, US, 1815207 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 ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; TR
- (62) Divided application EP2240578, 2008.12.19
- (73) Proprietor Takeda Pharmaceutical Company Limited, 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku,, Osaka-shi, Osaka, Japan
- (72) Inventor Plaimauer, Barbara, Boecklinstrasse 102/10, 1020 Vienna, Østerrike
von Fircks, Simone, 43 Hattaway Ave Bucklands Beach, 2012 Auckland, New Zealand
Grillberger, Leopold, Finsterergasse 1a, 1220 Vienna, Østerrike
Hasslacher, Meinhard, Vorgartenstrasse 221/1/7, 1020 Vienna, Østerrike
Geyer, Roland, Flamhofweg 30, 8505 Sankt Nikolai im Sausal, Østerrike
Mitterer, Artur, Schwarzeckerweg 10, 2304 Orth/Donau, Østerrike
Reiter, Manfred, Gebrueder-Lang-Gasse 11/17, 1150 Vienna, Østerrike
- (74) Agent or Attorney BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge
-

- (54) Title **SUBSTANTIALLY ANIMAL PROTEIN-FREE RECOMBINAT FURIN AND METHODS FOR PRODUCING SAME**
- (56) References Cited: WO-A-01/94383, WO-A2-2008/141824,
NAKAYAMA K: "Purification of recombinant soluble forms of furin produced in Chinese hamster ovary cells", METHODS IN ENZYMO, ACADEMIC PRESS, US, vol. 244, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 167-175, XP008096047, ISSN: 0076-6879, DOI: 10.1016/0076-6879(94)44014-X
NISHIGORI T ET AL: "Proinsulin cleaved by furin is processed to chromatographically mature insulin by carboxypeptidases in nonneuroendocrine cells.", PEPTIDES 1996, vol. 17, no. 5, 1996, pages 789-796, XP002524490, ISSN: 0196-9781
HATSUZAWA K ET AL: "PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF FURIN A KEX2-LIKE PROCESSING ENDOPROTEASE PRODUCED IN CHINESE HAMSTER OVARY CELLS", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM, US, vol. 267, no. 23, 15 August 1992 (1992-08-15), pages 16094-16099, XP002350311, ISSN: 0021-9258

ALEXANDRA PREININGER ET AL: "Strategies for recombinant Furin employment in a biotechnological process: complete target protein precursor cleavage", CYTOTECHNOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 30, no. 1-3, 1 May 1999 (1999-05-01), pages 1-15, XP019236610, ISSN: 1573-0778, DOI: 10.1023/A:1008030407679

CHIRON M F ET AL: "Furin-mediated cleavage of Pseudomonas exotoxin-derived chimeric toxins", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BIRMINGHAM, US, vol. 272, no. 50, 12 December 1997 (1997-12-12), pages 31707-31711, XP008102903, ISSN: 0021-9258

TURECEK PETER L ET AL: "Biochemical and functional characterization of a serum-free rVWF drug candidate.", BLOOD, vol. 108, no. 11, Part 1, November 2006 (2006-11), page 303A, XP002524489, & 48TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; ORLANDO, FL, USA; DECEMBER 09 -12, 2006 ISSN: 0006-4971

AYOUBI TORIK A Y ET AL: "Production of recombinant proteins in Chinese hamster ovary cells overexpressing the subtilisin-like proprotein converting enzyme furin", MOLECULAR BIOLOGY REPORTS, REIDEL, DORDRECHT, NL, vol. 23, no. 2, 1 January 1996 (1996-01-01), pages 87-95, XP009096562, ISSN: 0301-4851

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. Sammensetning omfattende hovedsakelig animalsk proteinfritt rekombinant furin som mangler transmembrane og cytoplasmatiske domener og som omfatter en spesifikk aktivitet på minst 300 U/ μ g protein, sammensetningen omfatter vertscelleprotein i en konsentrasjon mindre enn omtrent 1,0 ng protein/U-furinaktivitet, eller vertscelle-DNA ved en konsentrasjon mindre enn ca. 0,4 pg DNA/U-furinaktivitet, og mangler vesentlig kontaminerende proteiner fra serum, hvor den rekombinante furinaktiviteten måles på et kort syntetisk peptid som inneholder den dibasiske gjenkjenningssekvensen knyttet til en fluorescerende amino-metylkumarin (AMC)-gruppe, som frigjøres etter spaltning (BOC-RVRR-AMC), hvorved en aktivitetseenhet er definert som frigjøring av 1 pMol AMC per minutt ved 30°C.
2. Sammensetning ifølge krav 1, omfattende rekombinant furin med en aktivitet på minst ca. 10000 U furin/ml og vertscelleprotein med en konsentrasjon mindre enn ca. 11 μ g protein/ml.
3. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 2, hvor vertscellen er en kinesisk hamster eggstokk (CHO) celle.
4. Fremgangsmåte for fremstilling av sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 2, omfattende å dyrke en vertscelle transformert eller transfektert med et polynukleotid som koder for furin i serumfritt medium i en batchfôringskulturprosess under betingelser som tillater utskillelse av furinet til mediet.
5. Fremgangsmåte ifølge krav 4, omfattende trinnet med å tilpasse vertscellen til å vokse i medium med stadig lavere serumkonsentrasjoner inntil alt serum er fjernet fra mediet.

6. Fremgangsmåte ifølge krav 4 eller 5, omfattende å overføre vertscellen fra vekst i medium omfattende serum til vekst i serumfritt medium.
- 5 7. Fremgangsmåte ifølge krav 5 eller 6, der vertscellen er en kinesisk hamster eggstokk (CHO) celle.
8. Fremgangsmåte for prosessering av et forløperprotein omfattende et furin-spaltningssete omfattende trinnet å kontakte forløperproteinet
10 omfattende furin-spaltningssetet med sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 under betingelser for å spalte et forløperpeptid fra forløperproteinet for å danne et modent protein.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor det modne proteinet er von
15 Willebrand Factor.
10. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor det modne proteinet er faktor VIII.