(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
8. Juli 2010 (08.07.2010)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2010/076125 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 33/74 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2009/066517

(22) Internationales Anmeldedatum:
7. Dezember 2009 (07.12.2009)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102008054716.6
16. Dezember 2008 (16.12.2008) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US)*: **EVONIK DEGUSSA GMBH** [DE/DE]; Rellinghauser Straße 1-11, 45128 Essen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: **KUNZ, Franz-Rudolf** [DE/DE]; Buchenweg 12, 63571 Gelnhausen (DE). **GLASER, Florian** [DE/DE]; Karolingerring 8, 63791 Karlstein (DE). **WIENAND, Wolfgang** [DE/DE]; Wiesenstrasse 28, 60385 Frankfurt am Main (DE). **HANKO, Rudolf** [DE/DE]; Grunerstraße 48, 40239 Düsseldorf (DE). **EUL, Wilfried** [DE/DE]; Heidtanne 5, 63796 Kahl am Main (DE). **REICHERT, Dietmar** [DE/DE]; Elsavastraße 79, 63863 Eschau (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

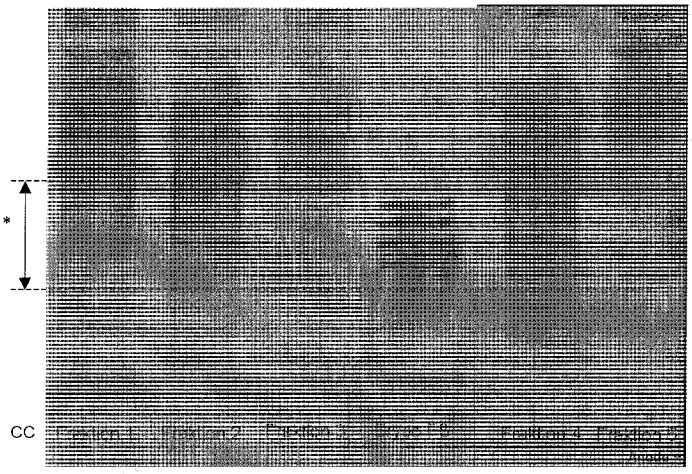
Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)*

(54) Title: IN-PROCESS CONTROL IN A METHOD FOR PRODUCING EPO

(54) Bezeichnung : INPROZESSKONTROLLE IN EINEM VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON EPO

Fig. 1



DD *: therapeutisch nutzbare EPO-Isoformen

AA Cathode
BB pH value
CC Fraction 1, Fraction 2, Fraction 3, Fraction 4, Fraction 5
DD therapeutically usable EPO isoforms

(57) Abstract: The invention relates to a method for determining the isoform composition of erythropoietin, comprising the following steps: a) isoelectrical focusing of a sample comprising erythropoietin in a gel over a pH range having a lower limit of 2.5 to 3.5 and an upper limit of 5 to 8, wherein the sample comprising erythropoietin originates from a culture supernatant of erythropoietin producing eukaryotic cells; b) transferring of the proteins comprised and separated in the gel to a membrane; c) verifying the erythropoietin bound to the membrane by specific antibodies; and to a method for in-process control of culture supernatants of erythropoietin producing eukaryotic cells during the fermentative production process.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Bestimmung der Isoformenzusammensetzung von Erythropoietin umfassend die folgenden Schritte: a) isoelektrische Fokussierung einer Erythropoietin enthaltenden Probe in einem Gel über einen pH-Bereich, dessen untere Grenze von 2,5 bis 3,5 und dessen obere Grenze von 5 bis 8 liegt, wobei die Erythropoietin enthaltende Probe aus einem Kulturüberstand von Erythropoietin-produzierenden eukaryontischen Zellen stammt; b) Übertragen der im Gel enthaltenen und aufgetrennten Proteine auf eine Membran; c) Nachweis des an der Membran gebundenen Erythropoietins durch spezifische Antikörper; sowie ein Verfahren zur Inprozesskontrolle von Kulturüberständen von Erythropoietin-produzierenden eukaryontischen Zellen im Rahmen des fermentativen Herstellungsprozesses.

WO 2010/076125 A1