

REIVINDICACIONES

1. Una célula para expresar una glucoproteína sialilada, en donde la célula expresa de manera constitutiva y/o controlable un péptido catalítico de sialiltransferasa exógena y una un péptido catalítico de galactosiltransferasa exógena, en donde un péptido catalítico de sialiltransferasa exógena y el péptido catalítico de galactosiltransferasa exógena se traducen en estrecha proximidad.

2. La célula de la reivindicación 1, en donde un péptido catalítico de sialiltransferasa exógena y el péptido catalítico de galactosiltransferasa exógena se expresan en un solo transcripto.

3. La célula de la reivindicación 1, que comprende un primer ácido nucleico configurado para expresar un péptido catalítico de sialiltransferasa exógena y un segundo ácido nucleico configurado para expresar el péptido catalítico de galactosiltransferasa exógena, en donde el primer ácido nucleico y el segundo ácido nucleico son controlados transcripcionalmente por el mismo promotor.

4. La célula de la reivindicación 3, en donde el primer ácido nucleico y el segundo ácido nucleico se conectan entre sí a través de un ácido nucleico de conexión, el cual se configura para codificar para un péptido de desplazamiento ribosómico.

5. La célula de la reivindicación 3, en donde un péptido

catalítico de sialiltransferasa exógena y el péptido catalítico de galactosiltransferasa exógena se configuran para ser expresados como una proteína de fusión.

5 **6.** La célula de la reivindicación 5, en donde la proteína de fusión comprende una primera porción que tiene el dominio del péptido catalítico de sialiltransferasa y una segunda porción que tiene el dominio del péptido catalítico de galactosiltransferasa, en donde la primera porción y la segunda porción se conectan entre sí a través de un enlazante
10 escindible, en donde además el enlazante escindible se configura para ser escindible después de la traducción de la proteína de fusión, proporcionando por lo tanto después de la escisión el péptido catalítico de sialiltransferasa y el péptido catalítico de galactosiltransferasa como proteínas
15 separadas.

7. La célula de la reivindicación 3, en donde el primer ácido nucleico se deriva de un ST6Ga11 gene o un gen PspST.

8. La célula de la reivindicación 3, en donde el segundo ácido nucleico se deriva de un gen B4GALT1.

20 **9.** La célula de la reivindicación 3, en donde el promotor es un promotor constitutivo o un promotor activable.

10. La célula de la reivindicación 1, en donde la sialiltransferasa es una beta-galactósido alfa-2,6-sialiltransferasa 1.

25 **11.** La célula de la reivindicación 1, en donde el péptido

catalítico de galactosiltransferasa es una beta-1,4-galactosiltransferasa 1.

12. La célula de la reivindicación 1, en donde la célula es deficiente en actividad de fucosiltransferasa.

5 **13.** Un método para la glucoingeniería de una glucoproteína recombinante que comprende:

proporcionar un vector de expresión en una célula de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el vector de expresión comprende una carga útil ácido nucleico configurado para codificar para la glucoproteína recombinante; 10 y

expresar el ácido nucleico de carga útil nucleico en la célula, obteniendo por lo tanto una pluralidad de glucoproteínas recombinantes, donde al menos una glucoproteína recombinante de la pluralidad se conjuga con un glicano sialilado. 15

14. El método de la reivindicación 13, en donde el glicano sialilado es un glicano de tipo complejo de α 2-6-sialilo (SCT).

20 **15.** El método de la reivindicación 13, en donde el glicano sialilado carece de fucosa en el núcleo.

16. El método de la reivindicación 13, en donde al menos 50% de la pluralidad de las glucoproteínas recombinantes se conjuga con el glicano sialilado.

25 **17.** El método de la reivindicación 13, que comprende

además cosechar la pluralidad de glucoproteínas recombinantes dentro de 200 horas a partir de la expresión del ácido nucleico de carga útil en la célula.

5 **18.** El método de la reivindicación 13, en donde la glucoproteína recombinante es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

19. El método de la reivindicación 18, en donde el glicano se encuentra sobre un sitio N46, N402 y/o N297 del anticuerpo.

10 **20.** El método de la reivindicación 18, en donde el anticuerpo es Adalimumab (Humira®), Adalimumab-atto (Amjevita®), Rituximab (Rituxan®), Rituximab -atto (Truxima®), Cetuximab (Erbitux®), Bevacizumab (Avastin®), Infliximab (Remicade®), Trastuzumab (Herceptin®), Pembrolizumab
15 (Keytruda®), Etanercept (Enbrel®), Ipilimumab (Yervoy®), Ofatumumab (Arzerra), Golimumab (Simponi®), Atezolizumab (Tecentriq®), Ocrelizumab (OCREVUS®), Durvalumab (Durvalumab®), Avelumab (Bavencio®), Nivolumab (Opdivo®), Pertuzumab (Perjeta®), Obinutuzumab (Gazyva®), Gazyvaro Infliximab
20 (Remicade®) o Trastuzumab emtansine (Kadcyla®).

21. Una pluralidad de glucoproteínas recombinantes enriquecidas, en donde al menos 50% de la pluralidad de glucoproteínas recombinantes se configura con un glicano sialilado.

25 **22.** La pluralidad de glucoproteínas recombinantes

enriquecidas de la reivindicación 21, en donde al menos 70% de la pluralidad de glucoproteínas recombinantes enriquecidas se configura con el glicano sialilado.

5 **23.** La pluralidad de glucoproteínas recombinantes enriquecidas de la reivindicación 21, en donde la pluralidad de las glucoproteínas recombinantes enriquecidas se conjuga con el glicano sialilado en una homogeneidad de 40% a 99%

10 **24.** La pluralidad de glucoproteínas recombinantes enriquecidas de la reivindicación 21, en donde el glicano sialilado es un glicano de tipo complejo de α 2-6-sialilo (SCT).

25. La pluralidad de glucoproteínas recombinantes enriquecidas de la reivindicación 21, en donde la glucoproteína recombinante es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

15 **26.** La pluralidad de glucoproteínas recombinantes enriquecidas de la reivindicación 25, en donde el glicano se encuentra sobre un sitio N46, N402 y/o N297 del anticuerpo.

20 **27.** La pluralidad de glucoproteínas recombinantes enriquecidas de la reivindicación 21, que se obtiene utilizando el método para la glucoingeniería de una glucoproteína recombinante de la reivindicación 13.