1. Kompozicija, apimanti polipeptidų mišinį, minėtas mišinys apima polipeptidus, pateiktus SEQ ID Nr. 4-8, kur kompozicija yra gaunama tokiu būdu:

a) ląstelių terpė bioreaktoriuje užsėjama ląstelių, koduojančių tirpią rekombinantinę žmogaus PH20 (rHuPH20), inokuliatu tam, kad būtų gaminama ląstelių kultūra, kur:

ląstelės apima nuo 150 iki 300 kopijų nukleorūgšties, koduojančios tirpią rHuPH20;

bioreaktoriuje yra mažiausiai 100 litrų ląstelių kultūros;

1010 - 1011 ląstelių yra užsėjama 100 litrų ląstelių kultūros; ir

ląstelės yra kultivuojamos nustatytoje temperatūroje;

b) ląstelės maitinamos pirmąja maitinimo terpe, kurioje yra gliukozės, L-alanil-L-glutamino, žmogaus insulino ir mielių ekstrakto tokiais kiekiais, kurių pakanka padidinti ląstelių augimą ir didžiausią ląstelių tankį, ir padidinti tirpios rHuPH20 sintezę, kur į kultūrą maitinimo terpė yra dedama nuo 0,5 % iki 20 % ląstelių kultūros tūrio;

c) ląstelės maitinamos antrąja maitinimo terpe, kurioje yra gliukozės, L-alanil-L-glutamino, mielių ekstrakto ir natrio butirato tokiais kiekiais, kurių pakanka padidinti tirpios rHuPH20 sintezę ir sukelti ląstelių ciklo sustabdymą; ir temperatūra sumažinama, lyginant su temperatūrapakopoje a), iki temperatūros, pakankamos sustiprinti ląstelių ciklo sustabdymą, padidinti ląstelių gyvybingumą ir stabilizuoti tirpią hialuronidazę; kur:

L-alanil-L-glutamino kiekis yra sumažintas, lyginant su L-alanil-L-glutamino kiekiu pakopoje b);

mielių ekstrakto kiekis yra padidintas, lyginant su mielių ekstrakto kiekiu pakopoje b); ir

į kultūrą yra pridedama maitinimo terpės nuo 0,5 % iki 20 % ląstelių kultūros tūrio;

d) ląstelės maitinamos trečiąja maitinimo terpe, kurioje yra gliukozės, L-alanil-L-glutamino, mielių ekstrakto ir natrio butirato tokiais kiekiais, kurių pakanka padidinti tirpios rHuPH20 sintezę ir sukelti ląstelių ciklo sustabdymą; ir temperatūra sumažinama, lyginant su temperatūra pakopoje c), iki temperatūros, pakankamos sustiprinti ląstelių ciklo sustabdymą, padidinti ląstelių gyvybingumą ir stabilizuoti tirpią hialuronidazę; kur:

L-alanil-L-glutamino kiekis yra sumažintas, lyginant su L-alanil-L-glutamino kiekiu pakopoje c);

mielių ekstrakto, gliukozės ir natrio butirato kiekiai, padidinti, lyginant su mielių ekstrakto, gliukozės ir natrio butirato kiekiais pakopoje c); ir

į kultūrą yra pridedama maitinimo terpės nuo 0,5 % iki 20 % ląstelių kultūros tūrio;

e) ląstelės maitinamos ketvirtąja maitinimo terpe, kurioje yra gliukozės, L-alanil-L-glutamino, mielių ekstrakto ir natrio butirato tokiais kiekiais, kurių pakanka padidinti tirpios rHuPH20 sintezę ir sukelti ląstelių ciklo sustabdymą; ir temperatūra sumažinama, lyginant su temperatūra pakopoje d), iki temperatūros, pakankamos sustiprinti ląstelių ciklo sustabdymą, padidinti ląstelių gyvybingumą ir stabilizuoti tirpią hialuronidazę; kur:

L-alanil-L-glutamino ir gliukozės kiekis yra sumažintas, lyginant su L-alanil-L-glutamino ir gliukozės kiekiu pakopoje d);

natrio butirato kiekis sumažinamas, lyginant su natrio butirato kiekiu pakopoje d); ir

į kultūrą yra pridedama maitinimo terpės nuo 0,5 % iki 20 % ląstelių kultūros tūrio;

f) tęsiamas ląstelių kultivavimas, kol gyvybingumas nukrenta mažiausiai 50 % žemiau;

g) surinkto ląstelių kultūros skysčio gavimas; ir

h) rHuPH20 išgryninimas iš surinkto ląstelių kultūros skysčio,

kur tirpi rHuPH20 yra tirpi žmogaus PH20 forma, kuri rekombinantiniu būdu yra ekspresuojama kininio žiurkėno kiaušidžių (CHO) ląstelėse.

2. Kompozicija pagal 1 punktą, kur temperatūra pakopoje a) yra 37 °C.

3. Kompozicija pagal 1 arba 2 punktą, kur temperatūra pakopoje c) yra 36,5 °C.

4. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-3 punktų, kur temperatūra pakopoje d) yra 36 °C.

5. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-4 punktų, kur temperatūra pakopoje e) yra 35,5 °C.

6. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-5 punktų, kur surinktas ląstelių kultūros skystis prieš gryninimą yra filtruojamas.

7. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-6 punktų, kur tirpios rHuPH20 gryninimas yra atliekamas kolonėlės chromatografijos metodu.

8. Kompozicija pagal 7 punktą, kur kolonėlės chromatografija apima agarozės rutuliukų su skersiniais ryšiais kolonėlės chromatografiją, fenilu pakeistos agarozės rutuliukų kolonėlės chromatografiją, aminofenilboronato kolonėlės chromatografiją ir hidroksiapatito kolonėlės chromatografiją.

9. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-8 punktų, kur į kultūrą pridedama 4 % ląstelių kultūros tūrio maitinimo terpės.

10. Kompozicija pagal 1 punktą, kur:

pakopoje a) ląstelės yra kultivuojamos 37 °C temperatūroje;

pakopoje b) pirmoje maitinimo terpėje yra 33 g/l gliukozės, 32 mM L-alanil-L-glutamino, 16,6 g/l mielių ekstrakto ir 33 mg/l insulino, ir maitinimo terpės tūris pridedamas prie kultūros sudaro 4 % ląstelių kultūros tūrio;

pakopoje c) antrojoje maitinimo terpėje yra 33 g/l gliukozės, 16 mM L-alanil-L-glutamino, 33,4 g/l mielių ekstrakto ir 0,92 g/l natrio butirato, ir maitinimo terpės tūris pridedamas prie kultūros sudaro 4 % ląstelių kultūros tūrio; ir

temperatūra yra sumažinama iki 36,5 °C;

pakopoje d) trečiojoje maitinimo terpėje yra 50 g/l gliukozės, 10 mM L-alanil-L-glutamino, 50 g/l mielių ekstrakto ir 1,8 g/l natrio butirato, ir maitinimo terpės tūris pridedamas prie kultūros sudaro 4 % ląstelių kultūros tūrio; ir

temperatūra yra sumažinama iki 36 °C;

etape e) ketvirtoje maitinimo terpėje yra 33 g/l gliukozės, 6,6 mM L-alanil-L-glutamino, 50 g/l mielių ekstrakto ir 0,92 g/l natrio butirato, ir maitinimo terpės tūris pridedamas prie kultūros sudaro 4 % ląstelių kultūros tūrio; ir

temperatūra yra sumažinama iki 35,5 °C; papildomai apima pakopoje g) gauto ląstelių kultūros skysčio filtravimą, ir

pakopoje h) rHuPH20 išgryninimas iš surinkto kultūros skysčio, panaudojant agarozės rutuliukų su skersiniais ryšiais kolonėlės chromatografiją, fenilu pakeistos agarozės rutuliukų kolonėlės chromatografiją, aminofenilboronato kolonėlės chromatografiją ir hidroksiapatito kolonėlės chromatografiją.

11. Kompozicija pagal 1 punktą, kur:

pakopoje a) ląstelės yra užsėjamos, kai ląstelių tankis yra 4 × 105 ląstelių/ml; ir

ląstelės yra kultivuojamos 37 °C temperatūroje;

pakopoje b) pirmoje maitinimo terpėje yra 33 g/l gliukozės, 32 mM L-alanil-L-glutamino, 83,3 g/l mielių ekstrakto ir 33 mg/l insulino, ir maitinimo terpės tūris pridedamas prie kultūros sudaro 4 % ląstelių kultūros tūrio;

pakopoje c) antrojoje maitinimo terpėje yra 33 g/l gliukozės, 13 mM L-alanil-L-glutamino, 166,7 g/l mielių ekstrakto ir 0,92 g/l natrio butirato, ir maitinimo terpės tūris pridedamas prie kultūros sudaro 4 % ląstelių kultūros tūrio; ir

temperatūra yra sumažinama iki 36,5 °C;

pakopoje d) trečiojoje maitinimo terpėje yra 50 g/l gliukozės, 10 mM L-alanil-L-glutamino, 250 g/l mielių ekstrakto ir 1,8 g/l natrio butirato, ir maitinimo terpės tūris pridedamas prie kultūros sudaro 4 % ląstelių kultūros tūrio; ir

temperatūra yra sumažinama iki 36 °C;

pakopoje e) ketvirtoje maitinimo terpėje yra 33 g/l gliukozės, 6,7 mM L-alanil-L-glutamino, 250 g/l mielių ekstrakto ir 0,92 g/l natrio butirato, ir maitinimo terpės tūris pridedamas prie kultūros sudaro 4 % ląstelių kultūros tūrio; ir

temperatūra yra sumažinama iki 35,5 °C; toliau apima

filtravimą pakopoje g) gautą ląstelių kultūros skystį ir

pakopoje h) rHuPH20 išgryninimas iš surinkto kultūros skysčio, panaudojant agarozės rutuliukų su skersiniais ryšiais kolonėlės chromatografiją, fenilu pakeistos agarozės rutuliukų kolonėlės chromatografiją, aminofenilboronato kolonėlės chromatografiją ir hidroksiapatito kolonėlės chromatografiją.

12. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-11 punktų, kur 100 l ląstelių kultūros yra pagaminama mažiausiai 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 arba 40 gramų tirpios rHuPH20.

13. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-12 punktų, kur specifinės tirpios rHuPH20 aktyvumas yra lygus mažiausiai 80000, 100000, 120000, 140000, 160000 arba 180000 vienetų/mg.

14. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-13 punktų, kur ląstelių kultūros tūris bioreaktoriuje yra 200, 300, 400, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 arba 3500 litrų.

15. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-14 punktų, kur ląstelės, kurios koduoja tirpią rHuPH20, yra DG44 CHO ląstelės.

16. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-15 punktų, kur rHuPH20 koduoja nukleorūgštis, pateikta SEQ ID Nr. 47.