



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2768944 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12P 21/00 (2006.01)
C12N 5/00 (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45) Translation Published 2020.06.08

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2020.02.26

(86) European Application Nr. 12798373.2

(86) European Filing Date 2012.10.09

(87) The European Application's Publication Date 2014.08.27

(30) Priority 2011.10.21, US, 201161550058 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 Pfizer Inc., 235 East 42nd Street, New York, NY 10017, USA

(72) Inventor WANG, Wenge, 4 Pipers Glen, Andover, Massachusetts 01810, USA
LUAN, Yen-Tung, 3 Armand Drive, Chelmsford, Massachusetts 01824, USA
DRAPEAU, Denis, 2 Stillwater Road, Windham, New Hampshire 03087, USA
NOLAN, Ryan P., 200 Park Terrace Drive Apartment 241, Stoneham, Massachusetts 02180, USA

(74) Agent or Attorney ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54) Title **ADDITION OF IRON TO IMPROVE CELL CULTURE**

(56) References Cited:
WO-A1-2009/087087
WO-A1-98/08934
DAVID C. COHEN ET AL: "Biotin and choline replace the growth requirement of Madin-Darby canine kidney cells for high-density lipoproteins", JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY, vol. 124, no. 1, 1 July 1985 (1985-07-01), pages 96-106, XP055054198, ISSN: 0021-9541, DOI: 10.1002/jcp.1041240116
G. LESCOAT ET AL: "Antiproliferative and apoptotic effects in rat and human hepatoma cell cultures of the orally active iron chelator ICL670 compared to CP20: a possible relationship with polyamine metabolism", CELL PROLIFERATION, vol. 40, no. 5, 1 October 2007 (2007-10-01), pages 755-767, XP055054093, ISSN: 0960-7722, DOI: 10.1111/j.1365-2184.2007.00468.x

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/>

EP2768944

1

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for å øke celletetthet, -levedyktighet og/eller -titer i et celledyrkingsmedium som omfatter trinnene med:

5 (a) å tilveiebringe celler i et celledyrkingsmedium for å starte en celledyrkingsprosess, hvori celledyrkingsmediet omfatter jern som et sporelement; og

(b) å tilsette en sammensetning som omfatter jern i celledyrkingsmediet under celledyrkingsprosessen slik at konsentrasjonen av jern i celledyrkingsmediet økes

10 i løpet av celledyrkingsprosessen,

hvori sammensetningen som omfatter jern, tilsettes på eller etter dag tre av celledyrkingsprosessen,

hvori konsentrasjonen av jern i celledyrkingsmediet etter tilsetting av sammensetningen som omfatter jern, er i området mellom 100 μM og 5 mM.

15

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori sammensetningen som omfatter jern er valgt fra gruppen som består av FeSO_4 , Fe-citrat, Fe-transferrin, Fe-klorid, Fe-nitrat, Fe-EDTA, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, FeCl_2 , FeCl_3 og kombinasjoner derav.

20

3. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori sammensetningen som omfatter jern, tilsettes på eller etter dag seks av celledyrkingsprosessen.

4. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori sammensetningen som omfatter jern, tilsettes på flere tidspunkter under celledyrkingsprosessen.

25

5. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori konsentrasjonen av jern i celledyrkingsmediet etter tilsetting av sammensetningen som omfatter jern, er i området mellom 300 μM og 1 mM.

30

6. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori cellene er pattedyrceller.

7. Fremgangsmåten ifølge krav 6, hvori pattedyrcellene er CHO-celler.

EP2768944

2

8. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori celledyrkingsprosessen er en dyrkingsprosess i storskalaproduksjon.

5 **9.** Fremgangsmåten ifølge krav 8, hvori volumet av celledyrkingsmediet er minst omtrent 500 L.

10. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori cellene bærer et gen som koder for et rekombinant protein.

10 **11.** Fremgangsmåten ifølge krav 10, hvori det rekombinante proteinet er et antistoff eller fragment derav.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 10, hvori det rekombinante proteinet er et terapeutisk protein.

15

13. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 10-12, hvori fremgangsmåten ytterligere omfatter å rense det rekombinante proteinet.