



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2875047 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/00 (2006.01)
C12N 15/79 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.05.08
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.01.25
(86)	European Application Nr.	13729169.6
(86)	European Filing Date	2013.05.29
(87)	The European Application's Publication Date	2015.05.27
(30)	Priority	2012.05.29, US, 201261652549 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	Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA
(72)	Inventor	CHEN, Gang, 1600 Fox Tail Lane, Yorktown Heights, NY 10598, USA BURAKOV, Darya, 10 Ashton Road, Yonkers, NY 10705, USA DESHPANDE, Dipali, 62 Eldorado Court, White Plains, NY 10603, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **PRODUCTION CELL LINE ENHANCERS**

(56) References
Cited: OLIVARI SILVIA ET AL: "A novel stress-induced EDEM variant regulating endoplasmic
reticulum-associated glycoprotein degradation", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol.
280, no. 4, 28 January 2005 (2005-01-28), pages 2424-2428, XP002705620, ISSN: 0021-9258

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.** Isolert eukaryot celle omfattende og som uttrykker:

(a) et rekombinant polynukleotid som koder for et endoplasmisk retikulumnedbrytningsforsterkende alfa-man-nosidase-lignende protein 2 (EDEM2)-protein, hvori det rekombinante polynukleotidet som koder for EDEM2 er en del av et plasmid; og

(b) et polynukleotid eller polynukleotider som koder for et protein med flere delenheter, hvori proteinet med flere delenheter er et antistoff, og hvori ekspresjonen av EDEM2 i cellen øker titeren av proteinet med flere delenheter som utskilles inn i mediet når cellen dyrkes.

2. Den isolerte eukaryote cellen ifølge krav 1, hvori EDEM2-proteinets omfatter en aminosyresekvens som er minst 92 % identisk med SEQ ID NO: 1.**3.** Den isolerte eukaryote cellen ifølge krav 1 eller 2, hvori antistoffet omfatter aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 og SEQ ID NO: 46.**4.** Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 eller 3, hvori

(a) cellen også omfatter et polynukleotid som koder for en ubrettet proteintranskripsjonsfaktor som opererer oppstrøms for EDEM2, fortrinnsvis hvori transkripsjonsfaktoren er en splittet form av X-boksbindingsprotein 1(XBP-1), mer foretrukket hvori XBP-1 omfatter en aminosyresekvens som er minst 86 % identisk med SEQ ID NO: 9;

(b) cellen er en pattedyr-celle; og/eller

(c) cellen er en CHO-celle.

5. Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori plasmidet er lineært, sirkelformet, episomalt eller integrert.**6.** Den isolerte eukaryote cellen ifølge krav 1, hvori det rekombinante polynukleotidet omfatter en nukleotidsekvens, som koder for en EDEM2, operativt bundet til en promotor, fortrinnsvis hvori:

(a) EDEM2 omfatter en aminosyresekvens som er minst 92 % identisk med SEQ ID NO: 1 eller består av en aminosyresekvens som er minst 92 % identisk med SEQ ID NO: 1;

(b) EDEM2 omfatter aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 1 eller består av aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 1;

(c) polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter

omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO: 16;

(d) polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter omfatter en pattedyrisk ubikvitin-C-promotor; og/eller

(e) polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO: 14 eller SEQ ID NO: 15, eller i det vesentlige består av nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO: 14 og SEQ ID NO: 15.

7. Den isolerte eukaryote cellen ifølge krav 6, hvori cellen omfatter et polynukleotid som koder for et Xbp-1-protein hvori:

(a) Xbp-1-proteinet omfatter en aminosyresekvens som er minst 86 % identisk med SEQ ID NO: 9 eller består av en aminosyresekvens som er minst 86 % identisk med SEQ ID NO: 9;

(b) Xbp-1-proteinet omfatter aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 9 eller består av aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 9;

(c) polynukleotidet som koder for Xbp-1-proteinet omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO: 18; og/eller

(d) polynukleotidet som koder for Xbp-1-proteinet omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO: 17 eller i det vesentlige består av nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO: 17.

8. Den isolerte eukaryote cellen ifølge krav 6 eller 7, hvori det rekombinante polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for antistoffet omfatter en nukleotidsekvens som:

(a) koder for et polypeptid omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 43;

(b) koder for et polypeptid omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 44;

(c) koder for et polypeptid omfattende aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 43 og SEQ ID NO: 44;

(d) koder for et polypeptid omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 45;

(e) koder for et polypeptid omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 46; og/eller

(f) koder for et polypeptid omfattende aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 45 og SEQ ID NO: 46.

9. Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 6 til 8, hvori polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter koder for et anti-GDF8-antistoff hvori:

(a) anti-GDF8-antistoffet har en aminosyresekvens til en variabel region til tungkjeden ifølge SEQ ID NO: 20 og en aminosyresekvens til en variabel region til lett kjeden ifølge SEQ ID NO: 22; eller

(b) anti-GDF8-antistoffet omfatter en tungkjede som har aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 19 og en lettkjede som har aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 21.

10. Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 6 til 8, hvori

polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter koder for et anti-GDF8-antistoff hvori:

(a) polynukleotidet som koder for tungkjeden til anti-GDF8-antistoffet omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 23 og polynukleotidet som koder for lettkjeden til anti-GDF8-antistoffet omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 25; eller

(b) polynukleotidet som koder for tungkjeden til anti-GDF8-antistoffet består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 24 og polynukleotidet som koder for lettkjeden til anti-GDF8-antistoffet består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 26.

11. Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 6 til 8, hvori

polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter koder for et anti-GDF8-antistoff hvori:

(a) anti-ANG2-antistoffet har en aminosyresekvens til en variabel region til tungkjeden ifølge SEQ ID NO: 28 og en aminosyresekvens til en variabel region til lettkjeden ifølge SEQ ID NO: 30; eller

(b) anti-ANG2-antistoffet omfatter en tungkjede som har aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 27 og en lettkjede som har aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 29.

12. Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 6 til 8, hvori det

rekombinante polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter koder for en anti-ANG2-antistoffkjede hvori:

(a) polynukleotidet som koder for tungkjeden til anti-ANG2-antistoffet omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 31 og polynukleotidet som koder for lettkjeden til anti-ANG2-antistoffet omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 33; eller

(b) polynukleotidet som koder for tungkjeden til anti-ANG2-antistoffet består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 32 og polynukleotidet som koder for lettkjeden til anti-ANG2-antistoffet består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 34.

13. Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 6 til 8, hvori

polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter koder for et anti-AngPtl4-antistoff hvori:

(a) anti-ANGPTL4-antistoffet har en aminosyresekvens til en variabel region til tungkjeden ifølge SEQ ID NO: 36 og en aminosyresekvens til en variabel region til

lettkjeden ifølge SEQ ID NO: 38;

(b) anti-ANGPTL4-antistoffet omfatter en tungkjede som har aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 35 og en lettkjede som har aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 37.

- 5 **14.** Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 6 til 8 eller 13 hvori polynukleotidet eller polynukleotidene som koder for proteinet med flere delenheter koder for et anti-AngPtl4-antistoff:
- 10 (a) polynukleotidet som koder for tungkjeden til anti-ANGPTL4-antistoffet omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 39 og polynukleotidet som koder for lettkjeden til anti-ANGPTL4-antistoffet omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 41; eller
- 15 (b) polynukleotidet som koder for tungkjeden til anti-ANGPTL4-antistoffet består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 40 og polynukleotidet som koder for lettkjeden til anti-ANGPTL4-antistoffet består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 42.
- 15 **15.** Den isolerte eukaryote cellen ifølge krav 14, hvori proteinet med flere delenheter er et antistoff omfattende en aminosyresekvens valgt fra gruppen som består av SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45 og SEQ ID NO: 46.
- 20 **16.** Den isolerte eukaryote cellen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvori cellen er en eggstokkcelle fra kinesisk hamster (CHO-celle).
- 25 **17.** Fremgangsmåte for fremstilling av et protein med flere delenheter som er et antistoff, fremgangsmåten omfattende trinnene:
- 30 (a) å transfekte eukaryote celler med en vektor som koder for et endoplasmisk retikulumnedbrytningsforsterkende alfa-mannosidase-lignende protein 2 (EDEM2)-protein;
- 35 (b) å velge celler som er stabile integrantceller for vektoren; og
- (c) å dyrke de stabile integrantcellene i medium, hvori proteinet med flere delenheter utskilles av cellen inn i mediet,
- hvor enten de eukaryote cellene ved starten i trinn (a) allerede inneholder konstruksjonene eller de genetiske elementene som koder for antistoffet, eller konstruksjonene eller de genetiske elementene som koder for antistoffet innføres i de stabile integrantcellene valgt i (b) før trinn (c) utføres.
- 35 **18.** Fremgangsmåten ifølge krav 17, hvori cellene er CHO-celler.

19. Isolert pattedyrceelle omfattende:

- (i) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16 og (b) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 18;
- (ii) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16, (b) et polynukleotid, som koder for et polypeptid som omfatter aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 43 og SEQ ID NO: 44 og (c) et polynukleotid, som koder for et polypeptid som omfatter en aminosyresekvens ifølge SEQ ID NO: 45 og SEQ ID NO: 46;
- (iii) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16, (b) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 23, og (c) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 25;
- (iv) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16, (b) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 31, og (c) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 33;
- (v) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16, (b) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 39, og (c) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 41;
- (vi) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16, (b) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 18, (c) et polynukleotid, som koder for et polypeptid som omfatter aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 43 og SEQ ID NO: 44 og (d) et polynukleotid, som koder for et polypeptid som omfatter aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 45 og SEQ ID NO: 46;
- (vii) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16, (b) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 18, (c) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 23 og (d) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 25;
- (viii) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16, (b) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 18, (c) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 31 og (d) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 33;
- (ix) (a) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 16, (b) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 18, (c) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 39 og (d) et polynukleotid, som omfatter nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 41;
- (x) (a) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 14 eller 15, (b) et polynukleotid, som koder for et polypeptid som omfatter aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 43 og SEQ ID NO: 44 og (c) et polynukleotid, som koder for et polypeptid som omfatter aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 45 og SEQ ID NO: 46;
- (xi) (a) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 14 eller

- 15, (b) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 24, og
(c) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 26;
- (xii) (a) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 14 eller
15, (b) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 32, og
5 (c) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 4;
- (xiii) (a) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 14 eller
15, (b) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 40, og
(c) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 42;
- (xiv) (a) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 14
10 eller 15, (b) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 17,
(c) et polynukleotid, som koder for et polypeptid som omfatter aminosyresekvensene
ifølge SEQ ID NO: 43 og SEQ ID NO: 44 og (d) et polynukleotid, som koder for et
polypeptid som omfatter aminosyresekvensene ifølge SEQ ID NO: 45 og SEQ ID NO: 46;
- (xv) (a) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 14 eller
15, (b) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 17, (c)
15 et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 24, og (d) et
polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 26;
- (xvi) (a) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 14
eller 15, (b) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 17,
20 (c) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 32 og (d) et
polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 34, eller
- (xvii) (a) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 14
eller 15, (b) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 17,
(c) et polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 40 og (d) et
25 polynukleotid, som består av nukleinsyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 42.