



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3630946 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

C12N 5/00 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

C12P 21/02 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.07.01
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.03.27
(86)	European Application Nr.	18743683.7
(86)	European Filing Date	2018.05.29
(87)	The European Application's Publication Date	2020.04.08
(30)	Priority	2017.05.31, GB, 201708655
(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	UCB Biopharma SRL, Allée de la Recherche 60, 1070 Brussels, Belgium
(72)	Inventor	BEN YAHIA, Bassem, c/o IPD UCB Biopharma SPRL 60 Allée de la Recherche, 1070 Brussels, Belgium MALPHETTES, Laetitia, c/o IPD UCB Biopharma SPRL 60 Allée de la Recherche, 1070 Brussels, Belgium KOCHANOWSKI, Nadine, c/o IPD UCB Biopharma SPRL 60 Allée de la Recherche, 1070 Brussels, Belgium RENNER, Gill, c/o IPD UCB Celltech 208 Bath Road, Slough Berkshire SL1 3WE, Storbritannia DURRAN, Sandrine, c/o IPD UCB Celltech 208 Bath Road, Slough Berkshire SL1 3WE, Storbritannia YATES, Andrew Jeffrey, c/o IPD UCB Celltech 208 Bath Road, Slough Berkshire SL1 3WE, Storbritannia
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	CELL CULTURE METHODS
(56)	References Cited:	WO-A1-2017/186654, WO-A1-2012/145682, WO-A1-2016/180765, WO-A2-2008/063892, WO-A1-2013/158275, WO-A1-2014/145091, MARCO PATRONE ET AL: "Enhanced Expression of Full-Length Human Cytomegalovirus Fusion Protein in Non-Swelling Baculovirus-Infected Cells with a Minimal Fed-Batch Strategy", PLOS ONE, vol. 9, no. 3, 4 March 2014 (2014-03-04), page e90753, XP055505879, DOI: 10.1371/journal.pone.0090753 BASSEM BEN YAHIA ET AL: "Segmented linear modeling of CHO fed-batch culture and its application to large scale production : Segmented Linear Modeling of CHO Fed-Batch Culture", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, vol. 114, no. 4, 1 April 2017 (2017-04-01) , pages 785-797, XP055455705, US ISSN: 0006-3592, DOI: 10.1002/bit.26214 HONGCHENG LIU ET AL: "Impact of cell culture on recombinant monoclonal antibody product heterogeneity : Biotechnol. Prog.", BIOTECHNOLOGY PROGRESS., vol. 32, no. 5, 1 September 2016 (2016-09-01), pages 1103-1112, XP055514529, US ISSN: 8756-7938, DOI: 10.1002/btpr.2327

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/>

5 Patentkrav

1. Fremgangsmåte for fremstilling av et rekombinant protein, omfattende å:

a. dyrke vertsceller i stand til å produsere et rekombinant protein i et medium som er fritt for dyreavledede produkter, hvor vertscellene er CHO-celler;

10 b. utvikle kulturen gjennom en produksjonsfase hvor det rekombinante proteinet produseres av cellene, hvor, under produksjonsfasen, kulturen suppleres med

- cystein eller cystin opp til en total mengde på fra 10 vekt% til 30 vekt% av den forventede totale mengden produsert rekombinant protein; og
- tryptofan opp til en total mengde på fra 8 vekt% til 35 vekt% av den forventede totale mengden produsert rekombinant protein,

15 c. og, eventuelt, utvinne det rekombinante proteinet fra cellekulturmediet, hvor ett eller flere innledende eksperimenter utføres for å bestemme den forventede totale mengden produsert rekombinant protein.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor kulturen suppleres med cystein eller cystin opp til en total
20 mengde på fra 12 vekt% til 28 vekt% av den forventede totale mengden produsert rekombinant protein, så som en total mengde på fra 12 vekt% til 25 vekt%, f.eks. fra 12 vekt% til 20 vekt% av den forventede totale mengden produsert rekombinant protein.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor kulturen suppleres med tryptofan opp til en total
25 mengde på fra 8 vekt% til 30 vekt% av den forventede totale mengden produsert rekombinant protein, så som en total mengde på fra 8 vekt% til 25 vekt%, f.eks. fra 8 vekt% til 20 vekt% av den forventede totale mengden produsert rekombinant protein.

4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den totale mengden
30 cystein eller cystin som tilveiebringes under fremgangsmåten er fra 2,9 til 12 g/(10¹² celler), så som fra 2,9 til 7 g/(10¹² celler), f.eks. fra 5,6 til 7 g/(10¹² celler), hvor celler henviser til det forventede antallet integrale levedyktige celler ved produksjonsfasens slutt.

5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den totale mengden
35 tryptofan som tilveiebringes under fremgangsmåten er fra 2,5 til 7 g/(10¹² celler), så som fra 2,5 til 3,5 g/(10¹² celler), hvor celler henviser til det forventede antallet integrale levedyktige celler ved produksjonsfasens slutt.

3630946

2

- 5 6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den totale mengden av cystein eller cystin og tryptofan i kulturen nås ved å tilsette cystein eller cystin og tryptofan til cellekulturmediet:
- a. i begynnelsen av produksjonsfasen,
 - b. én eller flere ganger på vilkårlige tidspunkter under produksjonsfasen,
 - 10 c. gjennom kontinuerlig tilsetning under produksjonsfasen, eller
 - d. i en hvilken som helst kombinasjon av a., b. og c.
7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor fremgangsmåten er en batch-prosess, så som en fed-batch-prosess.
- 15 8. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor cystein eller cystin og tryptofan tilveiebringes gjennom daglig tilsetning under produksjonsfasen.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor cystein eller cystin utarmes i kulturen før cystein eller cystin
- 20 tilsettes neste dag, f.eks. ved å redusere cystein- eller cystintilsetning til et nivå mellom 5,6 og 7 g/(10¹² celler), hvor celler henviser til det forventede antallet integrale levedyktige celler ved produksjonsfasens slutt.
10. Fremgangsmåte ifølge krav 8 eller 9 hvor, under det sene produksjonsstadiet, dvs. når cellene
- 25 allerede har nådd den maksimale tettheten av levedyktige celler, tryptofan utarmes i kulturen før tryptofan tilsettes neste dag.
11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor konsentrasjonen av cystein eller cystin i cellekulturmediet ikke overstiger 0,9 g/L på noe som helst tidspunkt under
- 30 produksjonsfasen, fortrinnsvis hvor konsentrasjonen av cystein eller cystin i cellekulturmediet ikke overstiger 0,3 g/L på noe som helst tidspunkt under produksjonsfasen.
12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor konsentrasjonen av tryptofan i cellekulturmediet ikke overstiger 0,6 g/L på noe som helst tidspunkt under
- 35 produksjonsfasen, fortrinnsvis hvor konsentrasjonen av tryptofan i cellekulturen ikke overstiger 0,3 g/L medium på noe som helst tidspunkt under produksjonsfasen.

3630946

3

5 13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor produksjonsfasen utføres over minst 7 dager, fortrinnsvis minst 14 dager.

14. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav hvor, til enhver tid under 2. halvdel av produksjonsfasen:

- 10
- mengden av cystein eller cystin i kulturen er fra 10 vekt% til 30% av den forventede mengden produsert rekombinant protein; og
 - mengden av tryptofan i kulturen er fra 8 vekt% til 35% av den forventede mengden produsert rekombinant protein.

15 15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav hvor, til enhver tid under produksjonsfasen:

- 20
- mengden av cystein eller cystin i kulturen er fra 10 vekt% til 30% av den forventede mengden produsert rekombinant protein; og
 - mengden av tryptofan i kulturen er fra 8 vekt% til 35% av den forventede mengden produsert rekombinant protein.

16. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor det rekombinante proteinet er et antistoff eller et antigen-bindende fragment derav.

25 17. Fremgangsmåte ifølge krav 16, hvor antistoffet eller det antigen-bindende fragmentet derav er:

1) et antistoff eller et antigen-bindende fragment derav som

- 30
- a. omfatter CDR-H1 med sekvensen definert i SEKV. ID NR.:1; CDR-H2 med sekvensen definert i SEKV. ID NR.:2; CDR-H3 med sekvensen definert i SEKV. ID NR.:3; CDR-L1 med sekvensen definert i SEKV. ID NR.:4; CDR-L2 med sekvensen definert i SEKV. ID NR.:5 og CDR-L3 med sekvensen definert i SEKV. ID NR.:6; eller
- b. omfatter en lett variabel region med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 7 og en tung variabel region med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 8; eller
- 35
- c. omfatter en lett variabel region med minst 80% identitet eller likhet, fortrinnsvis 90% identitet eller likhet med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 7 og en tung variabel region med minst 80% identitet eller likhet, fortrinnsvis 90% identitet eller likhet med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 8;
- d. omfatter en lett variabel region med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 7 og en tung kjede med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 11; eller

- 5 e. omfatter en lett variabel region med minst 80% identitet eller likhet, fortrinnsvis 90% identitet eller likhet med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 7 og en tung kjede med minst 80% identitet eller likhet, fortrinnsvis 90% identitet eller likhet med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 11; eller
- 2) et antistoff som omfatter en lett kjede med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 9 og en tung kjede med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 10; eller
- 10 3) et antistoff som omfatter en lett kjede med minst 80% identitet eller likhet, fortrinnsvis 90% identitet eller likhet med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 9 og en tung kjede med minst 80% identitet eller likhet, fortrinnsvis 90% identitet eller likhet med sekvensen definert i SEKV. ID NR.: 10.
- 15 18. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor produksjonsfasen utføres i en bioreaktor, fortrinnsvis med et volum som er lik eller større enn 50 L, lik eller større enn 100 L, lik eller større enn 500 L, lik eller større enn 1000 L, lik eller større enn 2000 L, lik eller større enn 5000 L, lik eller større enn 10.000 L eller lik eller større enn 20.000 L.
- 20 19. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor fremgangsmåten omfatter det trinn å utvinne det rekombinante proteinet fra cellekulturmediet og et ytterligere trinn med å rense det rekombinante proteinet.
- 25 20. Fremgangsmåte ifølge krav 19, hvor rensingen omfatter Protein-A-kromatografi.
21. Fremgangsmåte ifølge krav 19 eller 20, videre omfattende det trinn å formulere det rensede rekombinante proteinet.
- 30 22. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor fremgangsmåten reduserer heterogeniteten til de rekombinante proteinene som produseres, hvor reduksjonen av heterogenitet omfatter reduksjon av:
- a. ladningsheterogenitet, fortrinnsvis APG (Acidic Peak Group); og/eller
- b. oksidasjon, isomerisering, fragmentering av aminosyre, glykering, deamidering,
- 35 cysteinylering av andre kovalente addukter; og/eller
- c. farge eller fargeintensitet, f.eks. mellom forskjellige batcher av det rekombinante proteinet; og/eller
- d. HMWS (High Molecular Weight Species); og/eller

3630946

5

5 e. instabilitet av rekombinant protein.

23. Fremgangsmåte for å redusere heterogeniteten til populasjonen av rekombinante proteiner i en batch produsert i produksjonsfase av rekombinante vertsceller, hvor vertscellene er CHO-celler, omfattende å

- 10 a. dyrke vertsceller i stand til å produsere et rekombinant protein i et medium som er fritt for dyreavledede produkter,
- b. utvikle kulturen gjennom en produksjonsfase hvor det rekombinante proteinet produseres av cellene, hvor, under produksjonsfasen, kulturen suppleres med
- cystein eller cystin opp til en total mengde på fra 10 vekt% til 30 vekt% av den
 - 15 forventede totale mengden produsert rekombinant protein; og
 - tryptofan opp til en total mengde på fra 8 vekt% til 35 vekt% av den forventede totale mengden produsert rekombinant protein

og, eventuelt, utvinne det rekombinante proteinet fra cellekulturmediet, hvor ett eller flere innledende eksperimenter utføres for å bestemme den forventede totale mengden produsert

20 rekombinant protein.

24. Fremgangsmåte ifølge krav 23, hvor fremgangsmåten har ett eller flere av de ytterligere trekkene angitt i et hvilket som helst av kravene 2 til 22.