



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3717631 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 5/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.12.18
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.08.30
(86)	European Application Nr.	18811257.7
(86)	European Filing Date	2018.11.29
(87)	The European Application's Publication Date	2020.10.07
(30)	Priority	2017.12.01, EP, 17204978
(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	CHEVALLIER, Valentine, c/o IP Department UCB Biopharma SRL 60, Allée de la Recherche, 1070 Brussels, Belgium KOCHANOWSKI, Nadine, c/o IP Department UCB Biopharma SRL 60, Allée de la Recherche, 1070 Brussels, Belgium MALPHETTES, Laetitia, c/o IP Department UCB Biopharma SRL 60, Allée de la Recherche, 1070 Brussels, Belgium COOL, Vincent Adolphe Carol, c/o IP Department UCB Biopharma SRL 60, Allée de la Recherche, 1070 Brussels, Belgium
(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-A2-2008/033517
HECKLAU CAROLINE ET AL: "S-Sulfocysteine simplifies fed-batch processes and increases the CHO specific productivity via anti-oxidant activity", JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 218, 2 December 2015 (2015-12-02), pages 53-63, XP029379422, ISSN: 0168-1656, DOI: 10.1016/J.JBIOTEC.2015.11.022
HAN KYU OH ET AL: "Effect of N-Acetylcystein on Butyrate-Treated Chinese Hamster Ovary Cells To Improve the Production of Recombinant Human Interferon- γ -1a", BIOTECHNOLOGY PROGRESS, vol. 21, no. 4, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 1154-1164, XP055034659, ISSN: 8756-7938, DOI: 10.1021/bp050057v
KITAZAWA M ET AL: "Intracellular redox regulation by a cystine derivative suppresses UV-induced NF- κ B activation", FEBS LETT, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 526, no. 1-3, 28 August 2002 (2002-08-28), pages 106-110, XP004379234, ISSN: 0014-5793, DOI: 10.1016/S0014-5793(02)03152-6
RONJA SEIBEL ET AL: "Impact of S-sulfocysteine on fragments and trisulfide bond linkages in monoclonal antibodies", MABS, vol. 9, no. 6, 5 June 2017 (2017-06-05), pages 889-897, XP055465718, US ISSN: 1942-0862, DOI: 10.1080/19420862.2017.1333212

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. En fremgangsmåte for å produsere et rekombinant proteinpreparat, hvor fremgangsmåten omfatter trinnene med:

5 (i) å inokulere vertsceller i et basalmedium, hvor basalmediet omfatter en innledende mengde av:

(a) cystein/cystin-analoger; og/eller

(b) cystein og/eller cystin,

10 (ii) å videreføre kulturen gjennom en produksjonsfase hvor det rekombinante proteinet er produsert av cellene, hvor, under nevnte produksjonsfase, cellekulturmediet blir supplert med:

(a) cystein/cystin-analoger; og

(b) cystein og/eller cystin,

15 hvor (a) og (b) kan bli tilsatt samtidig eller sekvensielt, hvor cystein/cystin-analogene er valgt fra gruppen som består av N,N'-diacetyl-L-cystin-dimetyler, N-Acetyl-L-cystein og N,N'-diacetyl-L-cystin, og hvor, når innholdet av basalmediet og de totale supplementene tilsatt blir lagt sammen blir det molare forhold av (a) til (b) mellom 1:10 og 10:1.

20 **2.** Fremgangsmåten i henhold til krav 1, hvor nevnte molare forhold av (a) til (b) er mellom 1:8 og 8:1, slik som mellom 1:6 og 6:1, f.eks. mellom 1:4 og 4:1, slik som mellom 1:3 og 3:1, f.eks. mellom 1:2 og 2:1, slik som mellom 1.5:1 og 1:1.5 eller er 1:1.

25 **3.** Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor fremgangsmåten omfatter trinnene med:

(i) å inokulere vertsceller i et basalmedium, hvor basalmediet omfatter en innledende mengde av:

(a) cystein/cystin-analoger; og/eller

(b) cystein og/eller cystin,

30 (ii) å videreføre kulturen gjennom en produksjonsfase hvor det rekombinante proteinet blir produsert av cellene, hvor, under nevnte produksjonsfase, blir cellekulturmediet supplert med:

(a) cystein/cystin-analoger; og

(b) cystein og/eller cystin,

hvor (a) og (b) kan bli tilsatt samtidig eller sekvensielt,

hvor, når innholdet av basalmediet og de totale supplementene tilsatt blir lagt sammen, blir den molare mengden av (a) i lys av den totale molare

5 mengden av (a) og (b) fra 10 til 90 prosent, hvor i tilfelle en cystein-analog blir anvendt, blir den molare mengden av (b) kalkulert i lys av cystein-ekvivalent; og

hvor i tilfelle en cystin-analog blir anvendt, blir den molare mengden av (b) kalkulert i lys av cystin-ekvivalent.

10

4. Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor konsentrasjonen av (b) i nevnte basalmedium er ekvivalent med mellom 0,05 og 5 mmol/l av cystein, slik som mellom 0,1 og 1 mmol/l, f.eks. mellom 0,2 og 0,6 mmol/l.

15

5. Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor, under produksjonsfasen, blir mediet supplert med (a) cystein/cystin-analoger og (b) cystein og/eller cystin, hvor summen av (a) og (b) tilsatt til kulturen over hele produksjonsfasen er ekvivalent med mellom 1 og 75 mmol/l av cystein, slik som mellom 2 og 20 mmol/l.

20

6. Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor, under produksjonsfasen, blir mediet supplert daglig med (a) cystein/cystin-analoger og (b) cystein og/eller cystin, hvor den daglige tilsetningen bringer konsentrasjonen av (a) + (b) til en konsentrasjon ekvivalent med mellom 0,05 og 5 mmol/l av cystein, slik som mellom 0,1 og 1 mmol/l.

25

7. Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor vertscellene er pattedyr-celler, fortrinnsvis CHO-celler.

30

8. Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor det rekombinante proteinet er et antistoff eller et antigen-bindende fragment deriv.

9. Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor antistoffet eller det antigen-bindende fragmentet derav er:

i) et antistoff eller antigen-bindende fragment derav som

5 a. omfatter CDR-H1 som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.:1; CDR-H2 som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.:2; CDR-H3 som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.:3; CDR-L1 som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.:4; CDR-L2 som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.:5 og CDR-L3 som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.:6; eller

10 b. omfatter en lett variabel region som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 7 og en tung variabel region som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 8; eller

15 c. omfatter en lett variabel region som har minst 80 % identitet eller likhet, fortrinnsvis 90 % identitet eller likhet to sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 7 og en tung variabel region som har minst 80 % identitet eller likhet, fortrinnsvis 90 % identitet eller likhet to sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 8;

20 d. omfatter en lett variabel region som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 7 og en tung kjede som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 11; eller

25 e. omfatter en lett variabel region som har minst 80 % identitet eller likhet, fortrinnsvis 90 % identitet eller likhet to sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 7 og en tung kjede som har minst 80 % identitet eller likhet, fortrinnsvis 90 % identitet eller likhet to sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 11; eller

ii) et antistoff som omfatter en lett kjede som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 9 og en tung kjede som har sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 10; eller

30 iii) et antistoff som omfatter en lett kjede som har minst 80 % identitet eller likhet, fortrinnsvis 90 % identitet eller likhet to sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 9 og en tung kjede som har minst 80 % identitet eller likhet, fortrinnsvis 90 % identitet eller likhet to sekvensen som definert i SEKV. ID NR.: 10.

10. Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor det rekombinante proteinet er et protein som ikke er fargeløst ved en konsentrasjon på 10 mg/ml eller mer, slik som 50 mg/ml eller mer, når produsert av vertsceller dyrket i et cellekulturmedium som ikke omfatter cystein/cystin-analoger.

11. Fremgangsmåten i henhold til ett av de foregående kravene, hvor fremgangsmåten omfatter trinnet med å gjenvinne det rekombinante proteinet fra cellekulturmediet og et ytterligere trinn med å rense det rekombinante proteinet.

12. Fremgangsmåten i henhold til krav 11, hvor fremgangsmåten videre omfatter trinnet med å formulere det rensede rekombinante proteinet.