



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3818078 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/00 (2006.01)
C12N 5/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.04.29
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.02.28
(86)	European Application Nr.	19745845.8
(86)	European Filing Date	2019.07.02
(87)	The European Application's Publication Date	2021.05.12
(30)	Priority	2018.07.03, US, 201862693606 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	Bristol-Myers Squibb Company, Route 206 and Province Line Road, Princeton, NJ 08543, USA
(72)	Inventor	XU, Jianlin, Route 206 and Province Line Road, Princeton, New Jersey 08543, USA YONGKY, Andrew, Route 206 and Province Line Road, Princeton, New Jersey 08543, USA TIAN, Jun, Route 206 and Province Line Road, Princeton, New Jersey 08543, USA BORYS, Michael C., Route 206 and Province Line Road, Princeton, New Jersey 08543, USA LI, Zhengjian, Route 206 and Province Line Road, Princeton, New Jersey 08543, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	METHODS OF PRODUCING RECOMBINANT PROTEINS
(56)	References Cited:	FRANKLIN LU ET AL: "Automated dynamic fed-batch process and media optimization for high productivity cell culture process development", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, vol. 110, no. 1, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 191-205, XP55624579, ISSN: 0006-3592, DOI: 10.1002/bit.24602 SEN XU ET AL: "Bioreactor productivity and media cost comparison for different intensified cell culture processes", BIOTECHNOLOGY PROGRESS, vol. 33, no. 4, 28 January 2017 (2017-01- 28), pages 867-878, XP055443016, ISSN: 8756-7938, DOI: 10.1002/btpr.2415 ANDREW YONGKY ET AL: "Process intensification in fed-batch production bioreactors using non-perfusion seed cultures", MABS, 19 August 2019 (2019-08-19), pages 1-13, XP55625876, US ISSN: 1942-0862, DOI: 10.1080/19420862.2019.1652075 WILLIAM C. YANG ET AL: "Perfusion seed cultures improve biopharmaceutical fed-batch production capacity and product quality", BIOTECHNOLOGY PROGRESS, vol. 30, no. 3, 1 May 2014 (2014-05-01), pages 616-625, XP055168419, ISSN: 8756-7938, DOI: 10.1002/btpr.1884 POHLSCHEIDT MICHAEL ET AL: "Optimizing capacity utilization by large scale 3000 L perfusion in seed train bioreactors", BIOTECHNOLOGY PROGRESS, 1 January 2012 (2012-01- 01), pages n/a-n/a, XP055049926, ISSN: 8756-7938, DOI: 10.1002/btpr.1672

YONGKY ANDREW ET AL: "BIOT 487: A novel high density N-1 batch seed strategy development for CHO cell culture manufacturing", ABSTRACTS OF PAPERS ; ACS NATIONAL MEETING & EXPOSITION, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 255, 18 March 2018 (2018-03-18), page Biot487, XP009516114, ISSN: 0065-7727

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 storskala fremstilling av et rekombinant polypeptid av interesse, omfattende å dyrke vertsceller som uttrykker det rekombinante polypeptidet av interesse i et ikke perfusjonsbasert kultursystem i trinn N-1, hvor vertscellene dyrkes i et anriket medium for å oppnå en tetthet av levedyktige celler i trinn N-1 på minst 5×10^6 levedyktige celler per mL; og inokulere et
- 10 N-fremstillingskultursystem med høy frøtetthet på minst $1,5 \times 10^6$ celler per mL med vertsceller fra det ikke perfusjonsbaserte kultursystemet i trinn N-1, hvor det anrikede mediet omfatter en økt mengde av en karbonkilde i forhold til ikke-anriket medium og / eller en økt mengde av næringsstoffer valgt fra aminosyrer, lipider, vitaminer, mineraler og polyaminer i forhold til ikke-anriket medium.
- 15 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor det ikke perfusjonsbaserte kultursystemet i trinn N-1 er en satskultur og vertscellen dyrkes i et anriket medium, eller hvor det ikke perfusjonsbaserte kultursystemet i trinn N-1 er en matet satskultur og vertscellen dyrkes i et frømedium med tilsetning av et fødemedium.
- 20 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor tettheten av levedyktige celler i trinn N-1 er minst 10×10^6 , minst 15×10^6 , minst 20×10^6 , minst 25×10^6 eller minst 30×10^6 levedyktige celler per mL.
4. Fremgangsmåte ifølge krav 3, hvor cellelevedyktigheten på siste dag av trinn N-1 er minst 80%,
- 25 minst 85% eller minst 90%.
5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvor mediet anrikes gjennom et fødemedium med minst 5% i forhold til ikke-anriket medium, minst 10% i forhold til ikke-anriket medium, minst 15% i forhold til ikke-anriket medium eller minst 20% i forhold til ikke-anriket
- 30 medium.
6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-5, hvor det anrikede mediet eller fødemediet omfatter en økt mengde av en karbonkilde.
- 35 7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6, hvor karbonkilden er glukose.
8. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-7, hvor det anrikede mediet eller fødemediet omfatter en økt mengde næringsstoffer, valgt fra aminosyrer, lipider, vitaminer,

5 mineraler og polyaminer.

9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, hvor det anrikede mediet omfatter en økt mengde av en karbonkilde og næringsstoffer, valgt fra aminosyrer, lipider, vitaminer, mineraler og polyaminer.

10

10. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, hvor vertscellen er en pattedyrceelle.

11. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor vertscellen er en CHO-celle.

15 12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-11, hvor N-fremstillingskultursystemet er en matet satsvis bioreaktor.

13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12, hvor titeren til polypeptidet av interesse er minst 100 mg/L, minst 1 g/L, minst 3 g/L, minst 5 g/L eller minst 10 g/L.

20

14. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-13, hvor vertscellene dyrkes i et basalmedium eller et anrikt basalmedium for å oppnå en tetthet av levedyktige celler i fremstillingstrinn N på minst $1,5 \times 10^6$, minst 5×10^6 eller minst 10×10^6 levedyktige celler per mL.

25 15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-14, videre omfattende det trinn å isolere polypeptidet av interesse fra N-fremstillingskultursystemet.