(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. März 2010 (18.03.2010)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2010/029101 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
C12N 5/00 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2009/061679

(22) Internationales Anmeldedatum:
9. September 2009 (09.09.2009)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
08164053.4 10. September 2008 (10.09.2008) EP

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US)*: **BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA GMBH & CO. KG** [DE/DE]; Binger Straße 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: **FLORIN, Lore** [DE/DE]; Boehringer Ingelheim GmbH, CD Patents, Binger Str. 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE). **BISCHOFF, Rebecca** [DE/DE]; Boehringer Ingelheim GmbH, CD Patents, Binger Str. 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE). **FIEDER, Jürgen** [DE/DE]; Boehringer Ingelheim GmbH, CD Patents, Binger Str. 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE). **KAUFMANN, Hitto** [DE/DE]; Boehringer Ingelheim GmbH, CD Patents, Binger Str. 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE). **KRIEG, Thomas** [DE/DE]; Boehringer Ingelheim GmbH, CD Patents, Binger Str. 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE).

(74) Anwälte: **HAMMANN, Heinz** et al.; Binger Str. 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

— *hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii)*

Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)*

(54) **Title**: USE OF HSA-PRODUCING CELLS

(54) **Bezeichnung** : VERWENDUNG HSA-PRODUZIERENDER ZELLEN

(57) **Abstract**: The present invention refers to the area of cell culture technology and relates to methods for multiplying/cloning cells, preferably cell lines, that are important to the production of biopharmaceuticals. The invention further relates to methods for manufacturing proteins and to the use of cells extracted and multiplied through single cell sorting and to media compositions that enable a multiplication of single cells. Through the use of albumin-producing, preferably HSA-producing, cells as feeder cells for the conditioning of medium or as host cells, the recloning efficiency and thereby the quantity of clones obtained can be significantly increased. A combination of these approaches is also possible. Through the use of albumin-producing, preferably HSA-producing, cells, an increase in the recloning efficiency can be achieved in serum-free and/or insulin-free medium as well, and in different cell types.

(57) **Zusammenfassung**: Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der Zellkulturtechnologie und betrifft Verfahren zur Vermehrung/Klonierung von Zellen, vorzugsweise von Zelllinien, die für die Produktion von Biopharmazeutika von Bedeutung sind. Ferner betrifft die Erfindung Verfahren zur Herstellung von Proteinen unter Verwendung von Zellen, die mittels Einzelzellablage gewonnen und vermehrt wurden sowie Medien-Zusammensetzungen, die eine Vermehrung von Einzelzellen ermöglichen. Durch die Verwendung Albumin-bzw. bevorzugt HSA-produzierender Zellen zum Konditionieren von Medium, als Feederzellen oder als Wirtszellen kann die Reklonierungseffizienz und dadurch die Quantität der erhaltenen Klone signifikant gesteigert werden. Es ist auch eine Kombination dieser Ansätze möglich. Durch die Verwendung von Albumin-bzw. bevorzugt HSA-produzierenden Zellen kann auch in Serum- und/oder Insulin-freiem Medium und in unterschiedlichen Zelltypen eine Steigerung der Reklonierungseffizienz erzielt werden.

WO 2010/029101 A1