

REIVINDICACIONES

1. Un método para manufacturar una proteína de interés en donde tal proteína es expresada en una célula hospedera, caracterizado porque comprende:

5 a) cultivar tales células hospederas bajo condiciones de manera que expresan tal proteína,

 b) recolectar las células hospederas a partir del fluido de cultivo celular,

 c) agregar amortiguador a tales células hospederas,
10 y

 d) someter las células hospederas a tratamiento con calor en donde el potencial rédox de tal amortiguador se mantiene por debajo de -0 mV durante tal tratamiento con calor.

15 2. Un método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el tratamiento con calor se realiza en un contenedor y tal potencial rédox se mantiene reduciendo la cantidad de oxígeno (O₂) presente en la fase gaseosa en el contenedor durante la extracción de proteína.

20 3. Un método de conformidad con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque se agrega nitrógeno (N₂) a la fase gaseosa del contenedor.

 4. Un método de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque tal fase gaseosa contiene al menos
25 50% de N₂.

5. Un método de conformidad con la reivindicación 3 o 4, caracterizado porque tal N_2 se agrega al contenedor como una cubierta en la fase gaseosa del contenedor o rociando el N_2 a través de la muestra.

5 6. Un método de conformidad con cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque tal la etapa de tratamiento con calor se realiza de 30°C hasta 70°C.

7. Un método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque tal la etapa de tratamiento con calor
10 se realiza de 55°C a 65°C.

8. Un método de conformidad con cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque tal temperatura se mantiene por 1 a 18 horas.

9. Un método de conformidad con cualquier
15 reivindicación precedente, caracterizado porque se mide el pH del amortiguador después de la adición a las células hospederas y previo al tratamiento con calor.

10. Un método de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque el pH del amortiguador es, o se
20 ajusta a un pH de 6 a 9.

11. Un método de conformidad con cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque la proteína es una proteína recombinante codificada en un vector de expresión.

25 12. Un método de conformidad con la reivindicación

11, caracterizado porque la proteína es un anticuerpo recombinante.

13. Un método de conformidad con la reivindicación 12, caracterizado porque tal anticuerpo recombinante es un
5 fragmento de anticuerpo recombinante.

14. Un método de conformidad con la reivindicación 11 o 12, caracterizado porque tal anticuerpo recombinante o fragmento de anticuerpo recombinante se une específicamente a TNF-alfa o CD154.

10

15

20

25