



(12) Translation of
european patent specification

(11) NO/EP 2524043 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/70 (2006.01)
C07K 14/245 (2006.01)
C12N 9/52 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2015.07.27
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2015.03.18
(86)	European Application Nr.	11701216.1
(86)	European Filing Date	2011.01.13
(87)	The European Application's Publication Date	2012.11.21
(30)	Priority	2010.01.14, GB, 201000587
(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
	Designated Extension States:	BA ME
(73)	Proprietor	UCB Pharma, S.A., 60, allée de la Recherche, 1070 Brussels, BE-Belgia
(72)	Inventor	ELLIS, Mark, IPDUCB Celltech208 Bath Road, SloughBerkshire SL1 3WE, GB- Storbritannia HUMPHREYS, David, Paul, IPDUCB Celltech208 Bath Road, SloughBerkshire SL1 3WE, GB-Storbritannia
(74)	Agent or Attorney	Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	BACTERIAL HOST STRAIN COMPRISING A MUTANT SPR GENE AND HAVING REDUCED TSP ACTIVITY
(56)	References Cited:	WO-A2-02/48376 US-B1- 7 662 587 CHEN CHRISTINA ET AL: "High-level accumulation of a recombinant antibody fragment in the periplasm of Escherichia coli requires a triple-mutant (degP prc spr) host strain.", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, vol. 85, no. 5, 5 March 2004 (2004-03-05), pages 463-474, XP002630115, ISSN: 0006-3592 cited in the application HARA H ET AL: "OVERPRODUCTION OF PENICILLIN-BINDING PROTEIN 7 SUPPRESSES THERMOSENSITIVE GROWTH DEFECT AT LOW OSMOLARITY DUE TO AN SPR MUATION OF ESCHERICHIA COLI", MICROBIAL DRUG RESISTANCE, LIEBERT, US, vol. 2, no. 1, 1 January 1996 (1996-01-01) , pages 63-72, XP008015427, ISSN: 1076-6294 cited in the application

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 rekombinant gram-negativ bakteriecelle som omfatter et mutert spr-gen som koder for et spr protein UniprotKB/Swiss-Prot P0AFV4, som har en mutasjon ved en eller flere aminosyrer valgt fra N31Y, R62C, I70T, Q73R, C94A, S95F, V98E, Q99P, R100G, L108S, Y115F, D133A, V135D, V135G, L136P, G140C, R144C, H145A, G147C og H157A, og hvor cellen har redusert Tsp, Tail-spesifikk protease, protein-aktivitet sammenlignet med en vill-type celle.

2. Celle ifølge krav 1, hvor det muterte spr-genet koder for et spr- protein som har mutasjonene S95F og Y115F.

3. Celle ifølge krav 1 eller 2, hvor cellen videre omfatter ett eller flere av de følgende muterte gener:

a) et mutert DegP-gen som koder for et DegP-protein som har chaperone-aktivitet og redusert proteaseaktivitet;

b) et mutert ptr-gen, hvor det muterte ptr-genet koder for et protease III-protein med redusert proteaseaktivitet eller et knockout-mutert ptr-gen; og

c) et mutert OmpT-gen, hvor det muterte OmpT-genet koder for et OmpT-protein som har redusert proteaseaktivitet eller er et knockout-mutert OmpT-gen.

4. Celle ifølge krav 1, 2 eller 3, hvor cellen omfatter en mutert Tsp, Tail-spesifikk protease, gen som koder for et Tsp-protein som har redusert proteaseaktivitet eller er et knockout-mutert Tsp-gen.

5. Celle ifølge krav 4, hvor cellens genom er isogen til en vill-type bakteriecelle med unntak av det muterte spr-genet og det muterte Tsp-genet.

6. Celle ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor cellen har et knockout-mutert Tsp-gen som omfatter en mutasjon i gen-startkodonet og/eller ett eller flere stoppkodoner plassert nedstrøms for gen-startkodonet og oppstrøms for gen-stoppkodonet.

7. Celle ifølge krav 6, hvor det knockout-muterte Tsp-genet omfatter et restriksjons-markør-område dannet av en mis-sense-mutasjon i gen-startkodonet og eventuelt én

eller flere ytterligere punktmutasjoner.

8. Celle ifølge krav 7, hvor det knockout-muterte Tsp-genet omfatter SEQ ID NO: 3.

5 **9.** Celle ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor cellen er *E. coli*.

10. Celle ifølge hvilket som helst av de foregående krav, hvor cellen omfatter en polynukleotid-sekvens som koder for et protein av interesse.

10 **11.** Celle ifølge krav 10, hvor proteinet av interesse er et antistoff eller et antigenbindende fragment derav.

12. Celle ifølge krav 11, hvor antistoffet eller det antigenbindende fragment derav er spesifikt for TNF.

15 **13.** Fremgangsmåte for fremstilling av et protein av interesse omfattende dyrking av en rekombinant gram-negative bakteriecelle som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 12, i et dyrkningsmedium under betingelser som er effektive for å uttrykke det rekombinante protein av interesse og å utvinne det rekombinante protein
20 av interesse fra periplasma av den rekombinante gram-negative bakteriecellen og/eller dyrkningsmediet.

14. Fremgangsmåte ifølge krav 13, hvor fremgangsmåten videre omfatter gjenvinning av proteinet av interesse fra cellen.

25 **15.** Fremgangsmåte ifølge krav 14, hvor proteinet av interesse blir gjenvunnet fra periplasma og/eller supernatanten.