



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2850100 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/24 (2006.01)
C12N 15/70 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.03.04
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.10.10
(86)	European Application Nr.	13723086.8
(86)	European Filing Date	2013.05.13
(87)	The European Application's Publication Date	2015.03.25
(30)	Priority	2012.05.14, GB, 201208367
(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 Biopharma SPRL, Allée de la Recherche 60, 1070 Brussels, Belgium
(72)	Inventor	BASSETT, Philip Jonathan, c/o IPDUCB Celltech 208 Bath Road, Slough Berkshire SL1 3WE, Storbritannia HUMPHREYS, David Paul, c/o IPDUCB Celltech 208 Bath Road, Slough Berkshire SL1 3WE, Storbritannia PATEL, Pareshkumar Manjibhai, c/o IPD UCB Celltech 208 Bath Road, Slough Berkshire SL1 3WE, Storbritannia
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	RECOMBINANT BACTERIAL HOST CELL FOR PROTEIN EXPRESSION
(56)	References Cited:	WO-A1-2011/086136, WO-A2-2012/013930, CHRISTINA CHEN 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, WILEY & SONS, HOBOKEN, NJ, US, vol. 85, no. 5, 5 March 2004 (2004-03-05), pages 463-474, XP002630115, ISSN: 0006-3592, DOI: 10.1002/BIT.20014 [retrieved on 2004-01-26], MEHDI ARBABI-GHAHROUDI ET AL: "Prokaryotic expression of antibodies", CANCER AND METASTASIS REVIEWS, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 24, no. 4, 1 December 2005 (2005-12-01), pages 501-519, XP019205203, ISSN: 1573-7233, DOI: 10.1007/S10555-005-6193-1, GEORGIOU G ET AL: "Preparative expression of secreted proteins in bacteria: status report and future prospects", CURRENT OPINION IN BIOTECHNOLOGY, LONDON, GB, vol. 16, no. 5, 1 October 2005 (2005-10-01), pages 538-545, XP027676688, ISSN: 0958-1669 [retrieved on 2005-10-01], EP-A1- 2 546 267, WO-A2-02/061090, WO-A2-02/48376

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. Rekombinant gram-negativ bakteriecelle som omfatter:

a. et mutant spr-gen som koder for et spr-protein som har en mutasjon i en eller flere aminosyrer valgt fra D133, H145, H157, N31, R62, 170, Q73, C94, S95, V98, Q99, R100, L108, Y115, V135, L136, G140, R144 og G147, og

b. en ekspresjonsvektor som omfatter et gen som uttrykker eller overuttrykker ett eller flere proteiner som er i stand til å tilrettelegge for proteinfolding valgt fra FkpA, Skp eller en kombinasjon av FkpA og Skp,

hvori cellen har redusert Tsp-proteinaktivitet sammenlignet med en villtypecelle og hvori cellen ikke omfatter et rekombinant polynukleotid som koder for DsbC og hvori bakteriecellen er isogen med en villtype E. coli-celle, bortsett fra det muterte spr-genet og modifikasjonen som kreves for å redusere Tsp-proteinaktivitet sammenlignet med en villtypecelle.

2. Celle ifølge krav 1, hvori det mutante spr-genet koder for et spr-protein som har en eller flere mutasjoner valgt fra D133A, H145A, H157A, N31Y, R62C, I70T, Q73R, C94A, S95F, V98E, Q99P, R100G, L108S, Y115F, V135D, V135G, L136P, G140C, R144C og G147C.

3. Celle ifølge krav 1, hvori det mutante spr-genet koder for et spr-protein som har mutasjonene C94 og H145A.

4. Celle ifølge krav 1, hvori det mutante spr-genet koder for et spr-protein som har en mutasjon valgt fra D133A, H145A og H157A.

5. Celle ifølge krav 1, hvori det mutante spr-genet koder for et spr-protein som har en mutasjon valgt fra C94A.

6. Celle ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori det mutante spr-genet er integrert i genomet av cellen.

7. Celle ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori et gen som koder for et protein som er i stand til å lette proteinfolding transientvis transfekteres inn i cellen.

8. Celle ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori proteinet som er i stand til å lette proteinfolding er FkpA.

- 9.** Celle ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori cellen videre omfatter ett eller flere av de følgende muterte genene:
- a. et mutert DegP-gen som koder for et DegP-protein som har chaperonaktivitet, og redusert proteaseaktivitet;
 - 5 b. et mutert ptr-gen, hvori det muterte ptr-genet koder for et protease-III-protein som har redusert proteaseaktivitet eller er et knockoutmutert ptr-gen; og
 - c. et mutert OmpT-gen, hvori det muterte OmpT-genet koder for et OmpT-protein som har redusert proteaseaktivitet eller er et knockoutmutert OmpT-gen.
- 10 **10.** Celle ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori cellen omfatter et mutert Tsp-gen som koder for et Tsp-protein som har redusert proteaseaktivitet eller er et knockoutmutert Tsp-gen.
- 11.** Celle ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori cellen har et knockoutmutert
- 15 Tsp-gen som omfatter en mutasjon til genstartkodonet og/eller ett eller flere stoppkodoner posisjonert nedstrøms for genstartkodonet og oppstrøms for genstoppkodonet.
- 12.** Celle ifølge krav 11, hvori det knockoutmuterte Tsp-genet omfatter et
- 20 restriksjonsmarkørsted opprettet av en missense-mutasjon til genstartkodonet og eventuelt en eller flere ytterligere punktmutasjoner.
- 13.** Celle ifølge krav 12, hvori det knockoutmuterte Tsp-genet omfatter SEQ ID NO:3.
- 25 **14.** Celle ifølge ett foregående krav, hvori cellen er *E. coli*.
- 15.** Celle ifølge krav 14, hvori *E. coli*en er stamme K12 eller W3110.
- 16.** Celle ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori cellen videre omfatter en
- 30 polynukleotidsekvens som koder for et protein av interesse valgt fra et antistoff eller et antigenbindende fragment derav.
- 17.** Celle ifølge krav 16, hvori antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav er spesifikt for FcRn.
- 35 **18.** Fremgangsmåte for fremstilling av et protein av interesse som omfatter å dyrke en rekombinant gramnegativ bakteriecelle som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 17 i et kulturmedium under forhold som er effektive for å uttrykke det rekombinante

proteinet av interesse og utvinne det rekombinante proteinet av interesse fra periplasmaet til den rekombinante gram-negative bakteriecellen og/eller dyrkningsmediet.

- 5 **19.** Fremgangsmåte ifølge krav 18, hvori fremgangsmåten videre omfatter gjenvinning av proteinet av interesse fra cellen.

20. Fremgangsmåte ifølge krav 19, hvori proteinet av interesse gjenvinnes fra periplasmaet og/eller supernatanten.