



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3242931 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12P 21/00 (2006.01)
C07K 14/535 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C12N 1/04 (2006.01)
C12P 1/04 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)
C12P 21/04 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.06.14
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.03.31
(86)	European Application Nr.	16735454.7
(86)	European Filing Date	2016.01.08
(87)	The European Application's Publication Date	2017.11.15
(30)	Priority	2015.01.08, US, 201562101266 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	Sutro Biopharma, Inc., 310 Utah Street, Suite 150, South San Francisco, California 94080, USA
(72)	Inventor	CHANDLER, Martin, 310 Utah Street, Suite 150, South San Francisco, CA 94080, USA HAYENGA, Kirk, 310 Utah Street, Suite 150, South San Francisco, CA 94080, USA HEINSOHN, Henry, 310 Utah Street, Suite 150, South San Francisco, CA 94080, USA
(74)	Agent or Attorney	Nordic Patent Service A/S, Bredgade 30, 1260 KØBENHAVN K, Danmark

(54)	Title	FORMULATIONS FOR STABILIZING BACTERIAL CELL EXTRACTS
(56)	References Cited:	WO-A1-2014/004639 EP-A1- 0 259 739 US-B2- 7 048 915 US-A1- 2012 230 976

- DE VALDEZ, GF ET AL.: 'Effect of Drying Medium on Residual Moisture Content and Viability of Freeze-Dried Lactic Acid Bacteria.' APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY vol. 49, no. 2, February 1985, pages 413 - 415, XP055464124
- NECHVATAL, JM ET AL.: 'Fecal collection, ambient preservation, and DNA extraction for PCR amplification of bacterial and human markers from human feces.' JOURNAL OF MICROBIOLOGICAL METHODS vol. 72, 2008, pages 124 - 132, XP022420001
- LEACH, RH ET AL.: 'The Death of Micro-Organisms During Drying in Relation to Solute Concentration and Drying Temperature.' JOURNAL OF GENERAL MICROBIOLOGY vol. 21, 1959, pages 658 - 665, XP055464120
- G. ZHAO ET AL: "Effect of protective agents, freezing temperature, rehydration media on viability of malolactic bacteria subjected to freeze-drying", JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 99, no. 2, August 2005 (2005-08), pages 333-338, XP055083400, ISSN: 1364-5072, DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02587.x
- TEATHER, RM.: 'Maintenance of Laboratory Strains of Obligately Anaerobic Rumen Bacteria.' APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY vol. 44, no. 2, August 1982, pages 499 - 501 ; PAGE 500, XP055464127
- M. T. SMITH ET AL: "Lyophilized Escherichia coli -based cell-free systems for robust, high-density, long-term storage", BIOTECHNIQUES RAPID DISPATCHES, vol. 56, no. 4, April 2014 (2014-04), XP055364004, US ISSN: 0736-6205, DOI: 10.2144/000114158
- M. BASHOLLI-SALIHU ET AL: "Effect of lyoprotectants on [beta]-glucosidase activity and viability of Bifidobacterium infantis after freeze-drying and storage in milk and low pH juice", LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, ACADEMIC PRESS, UNITED KINGDOM, vol. 57, no. 1, 21 January 2014 (2014-01-21), pages 276-282, XP028660944, ISSN: 0023-6438, DOI: 10.1016/J.LWT.2014.01.011

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. Fremgangsmåte for å stabilisere et frysetørket bakterieekstrakt for cellefri proteinsyntese, fremgangsmåten omfatter:

5 i. å kombinere et bakterieekstrakt omfattende lyserte bakteriekomponenter, hvori ekstraktet er i stand til å syntetisere et målprotein fra en malnukleinsyre som koder for målproteinet i cellefri proteinsyntese, og en karbohydratsammensetning, hvori karbohydratsammensetningen utgjør 20–100 % (% av den totale karbohydratsammensetningen) sukrose og 0–80 % (% av den totale karbohydratsammensetningen) ikke-sukrosekarbohydrat omfattende mannitol, sorbitol, 10 dekstran eller blandinger derav for å gi en blanding; og

ii. å frysetørke blandingen for å fremstille det stabile, frysetørkede bakterieekstraktet som har et 0,6–2:1-forhold (vekt/vekt) mellom karbohydrat og tørkede bakteriekomponenter.

15 2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, videre omfattende å rehydrere det frysetørkede bakterieekstraktet; og syntetisere målproteinet under forhold som støtter en cellefri proteinsyntesereaksjon.

20 3. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori karbohydratsammensetningen utgjør 100 % sukrose, eller ikke-sukrosekarbohydratet omfatter minst 75 % av karbohydratsammensetningen.

25 4. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori ekstraktet har mindre enn eller lik 2,6 % (vekt/vekt) restvann, eller bakterieekstraktet er fra en *Escherichia*-art.

5. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori det frysetørkede bakterieekstraktet har et aktivt oksidativt fosforyleringssystem som fungerer under cellefri proteinsyntese.

30 6. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori frysetørking omfatter lyofilisering.

7. Frysetørket bakterieekstrakt for cellefri proteinsyntese omfattende:

i. tørkede, lyserte bakteriekomponenter, hvori ekstraktet er i stand til å

syntetisere ved rehydrering et målprotein fra en malnukleinsyre som koder for målproteinet;
og

ii. en karbohydratsammensetning i 0,6–2:1,0-forhold (vekt/vekt) mellom karbohydrat og tørkede bakteriekomponenter, hvori karbohydratsammensetningen utgjør 20–
5 100 % sukrose og 0–80 % ikke-sukrose-karbohydrat omfattende mannitol, sorbitol, dekstran eller blandinger derav.

8. Det frysetørkede bakterieekstraktet ifølge krav 7, hvori
karbohydratsammensetningen utgjør 100 % sukrose, eller
10 ikke-sukrosekarbohydratet omfatter minst 75 % av karbohydratsammensetningen, eller
ekstraktet har mindre enn eller lik 2,6 % (vekt/vekt) restvann, eller
bakterieekstraktet har et aktivt oksidativt fosforyleringssystem som fungerer under
cellefri proteinsyntese, eller
15 bakterieekstraktet er fra en *Escherichia*-art.

9. Det frysetørkede bakterieekstraktet ifølge krav 7, hvori ekstraktet har mindre enn eller lik 1,5 % (vekt/vekt) restvann.

20 10. Det frysetørkede bakterieekstraktet ifølge krav 7, hvori karbohydratsammensetningen utgjør 22 % sukrose, 22 % sorbitol, 46 % mannitol og 10 % dekstran.

11. Det frysetørkede bakterieekstraktet ifølge krav 7, hvori ekstraktet omfatter en karbohydratsammensetning i et 0,8–1,5:1,0-forhold (vekt/vekt) mellom karbohydrat og
25 tørkede bakteriekomponenter, hvori karbohydratsammensetningen utgjør 20–100 % sukrose og 0–80 % ikke-sukrosekarbohydrat omfattende mannitol, sorbitol, dekstran eller blandinger derav.