



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3630968 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 9/24 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.07.29
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.05.29
(86)	European Application Nr.	18728577.0
(86)	European Filing Date	2018.05.25
(87)	The European Application's Publication Date	2020.04.08
(30)	Priority	2017.05.26, GB, 201708471 2017.05.26, GB, 201708476 2018.04.24, GB, 201806655
(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	Genovis AB, Box 4, 244 21 Kaevlinge, Sverige
(72)	Inventor	LEO, Fredrik, 244 21 Kaevlinge, Sverige LOOD-ALAYÓN, Rolf, 244 21 Kaevlinge, Sverige BJORK, Stephan, 244 21 Kaevlinge, Sverige MEJARE, Malin, 244 21 Kaevlinge, Sverige OLSSON, Fredrik, 244 21 Kaevlinge, Sverige
(74)	Agent or Attorney	RWS, Europa House, Chiltern Park, Chiltern Hill, SL99FG CHALFONT ST PETER, Storbritannia

(54)	Title	ENZYMES FOR GLYCAN ANALYSIS
(56)	References Cited:	US-A1- 2005 112 751 DATABASE EMBL [Online] 6 May 2008 (2008-05-06), "Akkermansia muciniphila ATCC BAA-835 hypothetical protein", XP002782763, retrieved from EBI accession no. ACD04945 Database accession no. ACD04945 DATABASE UniProt [Online] 29 October 2014 (2014-10-29), "RecName: Full=Serine protease {ECO:0000256 RuleBase:RU004296}; EC=3.4.21..-{ECO:0000256 RuleBase:RU004296};", XP002782859, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:A0A081R2Z4 Database accession no. A0A081R2Z4 HUANG KUN ET AL: "Biochemical characterisation of the neuraminidase pool of the human gut symbiont Akkermansia muciniphila", CARBOHYDRATE RESEARCH, vol. 415, 14 August 2015 (2015-08-14), pages 60-65, XP029296667, PERGAMON, GB ISSN: 0008-6215, DOI: 10.1016/J.CARRES.2015.08.001 -& DATABASE UniProt [Online] 1 July 2008 (2008-07-01), "SubName: Full=Exo-alpha-sialidase {ECO:0000313 EMBL:ACD04462.1}; EC=3.2.1.18 {ECO:0000313 EMBL:ACD04462.1};", XP002782857, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:B2UPI5 Database accession no. B2UPI5 -& DATABASE UniProt [Online] 1 July 2008 (2008-07-01), "SubName: Full=Uncharacterized protein {ECO:0000313 EMBL:ACD05368.1};", XP002782858, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:B2ULI1 Database accession no. B2ULI1

PAULA E. MAGNELLI ET AL: "Identification and characterization of protein glycosylation using specific endo- and exoglycosidases", JOURNAL OF VISUALIZED EXPERIMENTS, no. 58, 26 December 2011 (2011-12-26), pages 1-5, XP055214903, DOI: 10.3791/3749

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. Sammensetning, omfattende en første og andre sialidase,
hvor den første sialidasen er et polypeptid omfattende eller som består av en
5 aminosyresekvens ifølge SEQ ID NO: 2; og
hvor den andre sialidasen er et polypeptid omfattende eller som består av en
aminosyresekvens ifølge SEQ ID NO: 5; og
hvor sammensetningen i tillegg omfatter en O-glykosidase omfattende eller som består
av en aminosyresekvens ifølge SEQ ID NO: 9,
10 eventuelt hvor den første og/eller den andre sialidasen inkluderer et ytterligere metionin
ved N-enden og/eller et histidinmerke ved C-enden, merket kan være forbundet med C-
enden med et bindeledd.
2. Sammensetningen ifølge krav 1, som er i stand til å hydrolysere >90 % av sialiske
15 bindinger i et glykoprotein, fortrinnsvis et glykoprotein i dets opprinnelige, ikke-
denaturerte tilstand.
3. Sammensetningen ifølge krav 1 eller 2, som omfatter sialidasen som består av
aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 3 og sialidasen som består av
20 aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 6, fortrinnsvis i forholdet 1:1.
4. Sammensetningen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor den
første sialidasen og/eller den andre sialidasen er til stede i svært renset eller isolert form.
- 25 5. Sammensetningen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor ikke
mer enn to polypeptider i sammensetningen er sialidaser oppnådd fra *Akkermansia
muciniphila*.
- 30 6. Sammensetningen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, som i
tillegg omfatter en O-glykoproteinspesifikk endoprotease, eventuelt hvor O-glykosidasen
og/eller den O-glykoproteinspesifikke endoproteasen er til stede i svært renset eller isolert
form.
- 35 7. Sammensetningen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor O-
glykosidasen består av aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 10.
8. Sammensetningen ifølge krav 6 eller 7, hvor den O-glykoproteinspesifikke
endoproteasen er en O-glykoproteinspesifikk endoprotease valgt fra:

- a. et polypeptid omfattende eller som består av en aminosyresekvens ifølge SEQ ID NO: 11;
- b. et polypeptid omfattende eller som består av en aminosyresekvens som er minst 85 % identisk med aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 11 eller
- 5 c. et polypeptid omfattende eller som består av en aminosyresekvens som er et fragment av sekvensen ifølge SEQ ID NO: 11 eller et fragment av en sekvens som er 85 % identisk med aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 11;
eventuelt hvori den O-glykoproteinspesifikke endoproteasen består av aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO: 12.
- 10 9. Fremgangsmåte for å modifisere et glykoprotein omfattende å bringe en prøve som inneholder glykoproteinet i kontakt med en sammensetning ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, eventuelt hvori de resulterende produktene analyseres.
- 15 10. Fremgangsmåten ifølge krav 9, hvori de resulterende produktene analyseres, og hvori analysen inkluderer separasjonen og/eller deteksjonen og/eller isoleringen av produktene ved hjelp av en hvilken som helst egnet måte, som inkluderer SDS-PAGE, HPLC, lektinblotting, ELISA eller massespektrometri.
- 20 11. Fremgangsmåte ifølge krav 9 eller 10, hvori sammensetningen er som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 4, og hvori fremgangsmåten omfatter å bringe prøven i kontakt med en O-glykoproteinspesifikk endoprotease samtidig, før eller etter at glykoproteinet er brakt i kontakt med sammensetningen.
- 25 12. Fremgangsmåte ifølge krav 9, hvori sammensetningen i tillegg omfatter en O-glykoproteinspesifikk endoprotease, hvori den O-glykoproteinspesifikke endoproteasen eventuelt er som definert i krav 8.