



SUOMI—FINLAND
(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

PATENTTIHAKEMUS—PATENTANSÖKAN
[A] TIIVISTELMÄ—SAMMANDRAG

(11) (21) Patentihakemus-Patentansökan 840463
(51) Kv.Ik.³/Int.Cl.³ C 12 N 15/00, 9/52 // C 12 N 9/60,
C 12 R 1/19
(22) Hakemispäivä-Ansökningsdag 6.2.84
(23) Alkupäivä-Löpdag
(41) Tullut julkiseksi-Blivit offentlig 6.2.84
(86) Kv. hakemus-Int. ansökan GB83/00152
(30) Etuoikeus-Prioritet 7.6.82 CA 404600 25.3.83
GB 8308234

- (71) Hakija/Sökande: Celltech Limited, 244-250 Bath Road, Slough, Berkshire, Yhdistynyt kuningaskunta
(72) Keksijät/Uppfinnare: 1. Carey, Norman Henry 2. Doe, Michael Terence 3. Harris, Timothy John Roy 4. Lowe, Peter Anthony 5. Emtege, John Spencer
(74) Asiamies/Ombud: Berggren
(54) Keksinnön nimitys/Uppfinningens benämning: Menetelmä kymosiinin valmistamiseksi. Förfarande för framställning av kymosin.

(57) Tiivistelmä

Menetelmä kymosiinin valmistamiseksi, jossa valmistetaan kymosiinin esiasteen, kuten metioniini-kymosiinin liukenevaton muoto isäntäorganismilla, kuten *Saccharomyces cerevisiae*llä tai *E. coli*llä, transformoituva vektorilla, jossa on geenikoodaus kymosiinin esiasteelle, jolloin kymosiinin esiasteen liukenevaton muoto solubilisoidaan kymosiinin esiasteen liukoisen natiivimuodon aikaansaamiseksi ennen kymosiinin esiasteen liukoisen natiivimuodon lohkaisemista kymosiinin aikaansaamiseksi. Solubilisointi käsitteää liukenevattoman kymosiinin esiasteen denaturoinnin ja sen antamisen renaturoitua muodostamaan kymosiinin esiasteen normaalina tai natiivina muodon. Natiivimuoto voidaan sen jälkeen lohkaista kymosiinin muodostamiseksi. Käytetyt denaturoivat aineet ovat urean tai guanidiinihydrokloridin vesiliuokset ja emäksiset liuokset, joiden pH on välillä 9,5 ja 11,5 joko erikseen tai yhdessä. Eräässä erityisessä selostetussa solubilisointityypissä liukenevaton kymosiinin esiaste denaturoidaan käyttäen urea- tai guanidiini-hydrokloridiliuosta. Saatu liuos laimennetaan sen jälkeen emäksiseen liuokseen kymosiinin esiasteen natiivimuodon aikaansaamiseksi.

Jatkuu seuraavalla sivulla
Forts. nästa sida

(57) Sammandrag

Förfarande för framställning av chymosin, i vilket en olöslig form av en chymosinprekursor, såsom metionin-chymosin, produceras av en värdorganism, såsom *Saccharomyces cerevisiae* eller *E. coli*, transformerad med en vektor omfattande en genkoding för chymosinprekursorn, varvid den olösliga formen av chymosinprekursorn solubiliseras för åstadkommande av en löslig nativform av chymosinprekursorn före spjällkning av den lösliga nativformen av chymosinprekursorn för åstadkommande av chymosin. Solubiliseringen omfattar denaturering av den olösliga chymosinprekursorn och att man därefter låter den renaturera för bildande av den normala eller nativa formen av chymosinprekursorn. Nativformen kan därefter spjälkas för bildande av chymosin. De använda denatureringsmedlen omfattar vattenlösningar av urea eller guanidinhydroklorid och alkaliska lösningar med ett pH mellan 9,5 och 11,5 antingen separat eller i kombination. I en beskriven speciell solubiliseringstyp denatureras den olösliga chymosinprekursorn med användande av en urea- eller guanidinhydrokloridlösning. Den erhållna lösningen utspädes därefter i en alkaliisk lösning för åstadkommande av den nativa formen av chymosinprekursorn.