(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator dokumenta: HR P20121077 T1

HR P20121077 T1

(12) PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTJEVA EUROPSKOG PATENTA

(51) MKP:
C12N 15/67 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 31.01.2013.

(21) Broj predmeta: P20121077T

(22) Datum podnošenja zahtjeva u HR: 28.12.2012.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/EP2008052493
Datum podnošenja međunarodne prijave: 29.02.2008.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 08717274.8
Datum podnošenja europske prijave patenta: 29.02.2008.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2008107388
Datum međunarodne objave: 12.09.2008.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 2126093 A1
Datum objave europske prijave patenta: 02.12.2009.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 2126093 B1
Datum objave europskog patenta: 10.10.2012.

(31) Broj prve prijave:	(32) Datum podnošenja prve prijave:	(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave:
07103406	02.03.2007.	EP
07104226	15.03.2007.	EP
07116358	13.09.2007.	EP

(73) Nositelj patenta: **Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co.KG., Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim am Rhein, DE**

(72) Izumitelji: **Hitto Kaufmann, Boehringer Ingelheim GmbH CD Patents Binger Str.173, 55216 Ingelheim am Rhein, DE**
Lore Florin, Boehringer Ingelheim GmbH CD Patents Binger Str. 173, 55216 Ingelheim am Rhein, DE
Eric Becker, Boehringer Ingelheim GmbH CD Patents Binger Str. 173, 55216 Ingelheim am Rhein, DE
Monilola Olayioye, Boehringer Ingelheim GmbH CD Patents Binger Str. 173, 55216 Ingelheim am Rhein, DE
Angelika Hausser, Boehringer Ingelheim GmbH CD Patents Binger Str. 173, 55216 Ingelheim am Rhein, DE
Tim Fugmann, Boehringer Ingelheim GmbH CD Patents Binger Str. 173, 55216 Ingelheim am Rhein, DE

(74) Zastupnik: CPZ - CENTAR ZA PATENTE d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: **POBOLJŠANJE PROIZVODNJE PROTEINA**

HR P20121077 T1

PATENTNI ZAHTJEVI

1. Postupak proizvodnje heterolognih proteina korisnih u stanici, **naznačen time, da**, obuhvaća:
   a. povećanje ekspresije ili djelovanja proteina s amino-kiselinskom sekvencom, koja sadrži ceramidni prijenosni protein CERT ili njegov derivat ili njegov mutant, i
   b. provođenje ekspresije navedenog korisnog proteina,

   pri čemu spomenuti derivat je polipeptidna molekula, čija sekvenca je barem 70% istovjetna originalnoj CERT-sekvenci ili njezinoj komplementarnoj sekvenci ili je spomenuti derivat homologna CERT-sekvenca iz različitog organizma, te pri čemu se spomenuti mutant bazira na ciljanoj modifikaciji CERT-sekvenci pomoću zamjene, umetanja ili izbacivanja od jedne do deset amino kiselina.
2. Postupak prema zahtjevu 1, **naznačen time, da**, CERT-protein je ceramidni prijenosni protein CERT (SEQ ID NO. 11 ili SEQ ID NO. 13) ili njegov derivat ili njegov mutant, pri čemu spomenuti derivat je polipeptidna molekula, čija sekvenca je barem 70% istovjetna originalnoj CERT-sekvenci ili njezinoj komplementarnoj sekvenci ili je spomenuti derivat homologna CERT-sekvenca iz različitog organizma, te pri čemu se spomenuti mutant bazira na ciljanoj modifikaciji CERT-sekvenci pomoću zamjene, umetanja ili izbacivanja od jedne do deset amino kiselina.
3. Postupak prema zahtjevu 2, **naznačen time, da**, CERT-protein je mutirani ceramidni prijenosni protein CERT, a spomenuta mutacija onemogućava i/ili izbacuje mjesto fosforilacije na bilo kojoj serin-, treonin- ili tirozin-poziciji od CERT-proteina.
4. Postupak prema zahtjevu 3, **naznačen time, da**, CERT-protein je mutirani ceramidni prijenosni protein CERT, a spomenuta mutacija onemogućava i/ili izbacuje mjesto fosforilacije protein-kinaze D (PKD) na poziciji 132 od CERT-proteina.
5. Postupak prema zahtjevu 4, **naznačen time, da**, mutirani CERT je $CERT_{S132A}$ (SEQ ID NO. 15).
6. Postupak prema zahtjevima od 1 do 5, **naznačen time, da**, spomenuti postupak rezultira s povećanjem specifične stanične produktivnosti spomenutog korisnog proteina u spomenutoj stanici, u usporedbi sa kontrolnom stanicom za ekspresiju spomenutog korisnog proteina, ali pri čemu spomenuta kontrolna stanica nema povećanje ekspresije niti djelovanja proteina s amino-kiselinskom sekvencom, koja sadrži ceramidni prijenosni protein CERT ili njegov derivat ili njegov mutant.
7. Postupak povećanja specifične stanične produktivnosti membranskog ili sekrecijskog korisnog proteina u stanici, **naznačen time, da**, obuhvaća uvođenje jednog ili više vektorskih sustava u stanicu sa sekvencama nukleinske kiseline, koji kodiraju za najmanje dva polipeptida, pri čemu
   a. prvi polinukleotid kodira za protein s amino-kiselinskom sekvencom koja ima ceramidni prijenosni protein CERT ili njegov derivat ili njegov mutant, i
   b. drugi polinukleotid kodira korisni protein,
   c. te se pritom vrši ekspresija iz spomenute stanice za korisni protein i protein s amino-kiselinskom sekvencom, koja sadrži ceramidni prijenosni protein CERT ili njegov derivat ili njegov mutant,

   gdje spomenuti derivat je polipeptidna molekula koja je barem 70% istovjetna u sekvenci s originalnom CERT-sekvencom ili njenom komplementarnom sekvencom ili je spomenuti derivat homologna CERT-sekvenca iz različitog organizma i pri čemu je spomenuti mutant baziran na ciljanoj modifikaciji CERT-sekvenci pomoću zamjene, umetanja ili izbacivanja od jedne do deset amino kiselina.
8. Postupak povećanja učinkovitosti transfekcije stanične ekspresije membranskog ili sekrecijskog korisnog proteina u stanici, **naznačen time, da**, obuhvaća:
   a. transfekciju spomenute stanice s prvim polinukleotidom koji kodira protein s amino-kiselinskom sekvencom koja sadrži ceramidni prijenosni protein CERT ili njegov derivat ili njegov mutant,
   b. naknadnu transfekciju spomenute stanice s drugim polinukleotidom koji kodira za korisni protein,
   c. te su pritom spomenuti prvi i drugi polinukleotid smješteni na različitim vektorskim sustavima,

   gdje spomenuti derivat je polipeptidna molekula koja je barem 70 % istovjetna u sekvenci s originalnom CERT-sekvencom ili njenom komplementarnom sekvencom ili je spomenuti derivat homologna CERT-sekvenca iz različitog organizma, te pri čemu je spomenuti mutant baziran na ciljanoj modifikaciji CERT-sekvenci pomoću zamjene, umetanja ili izbacivanja od jedne do deset amino kiselina.
9. Vektor ekspresije, **naznačen time, da**, obuhvaća dva polinukleotida, gdje
   a. prvi polinukleotid kodira za protein s amino-kiselinskom sekvencom, koja sadrži ceramidni prijenosni protein CERT ili njegov derivat ili njegov mutant i
   b. drugi protein kodira za korisni protein,

   pri čemu spomenuti derivat je polipeptidna molekula koja je barem 70 % istovjetna u sekvenci s originalnom CERT-sekvencom ili njenom komplementarnom sekvencom ili je spomenuti derivat homologna CERT-sekvenca iz

različitog organizma, te pri čemu je spomenuti mutant baziran na ciljanoj modifikaciji CERT-sekvenci pomoću zamjene, umetanja ili izbacivanja od jedne do deset amino kiselina.

10. Vektor ekspresije prema zahtjevu 9, **naznačen time, da**, ceramidni prijenosni protein CERT ima SEQ ID NO. 11 ili SEQ ID NO. 13.
11. Vektor ekspresije prema zahtjevu 9, **naznačen time, da**, mutirani CERT je $CERT_{S132A}$ (SEQ ID NO. 15).
12. Stanica, **naznačena time, da**, obuhvaća vektor ekspresije prema zahtjevima od 9 do 11.
13. Uporaba ceramidnog prijenosnog proteina CERT ili polinukleotida koji kodira za ceramidni prijenosni protein CERT, **naznačena time, da**, je za povećanje sekrecije i/ili proizvodnje korisnog proteina.