



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20220299 T1



HR P20220299 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTEJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

C07K 14/39 (2006.01)
C07K 14/415 (2006.01)
C07K 14/805 (2006.01)
C12N 15/00 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C12N 15/81 (2006.01)
C12R 1/84 (2006.01)
C12N 1/16 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 13.05.2022.

(21) Broj predmeta: P20220299T

(22) Datum podnošenja : 11.05.2016.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US2016031797
Datum podnošenja međunarodne prijave: 11.05.2016.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 16793420.7
Datum podnošenja europske prijave patenta: 11.05.2016.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2016183163
Datum međunarodne objave: 17.11.2016.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 3294762 A1
Datum objave europske prijave patenta: 21.03.2018.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 3294762 B1
Datum objave europskog patenta: 19.01.2022.

(31) Broj prve prijave: 201562159899 P	(32) Datum podnošenja prve prijave: 11.05.2015.	(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US
201562183074 P	22.06.2015.	US
201562185921 P	29.06.2015.	US
201562203052 P	10.08.2015.	US
201562220366 P	18.09.2015.	US
201562222388 P	23.09.2015.	US
201562236506 P	02.10.2015.	US
201662313491 P	25.03.2016.	US

(73) Nositelj patenta: Impossible Foods Inc., 400 Saginaw Drive, Redwood City, CA 94063, US

(72) Izumitelji: Smita Shankar, 120 S. El Camino Real Apt. 115, Millbrae, CA 94030, US
Martin Andrew Hoyt, 338 Garfield Street, San Francisco, CA 94132, US

(74) Zastupnik: Odvjetničko društvo Vukmir i suradnici, 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: EKSPRESIJSKI KONSTRUKTI I POSTUPCI ZA GENETSKU MODIFIKACIJU
METILOTROFNOG KVASCA

HR P20220299 T1

PATENTNI ZAHTJEVI

1. Stanica metilotrofnog kvasca *Pichia* koja sadrži:
 - a) prvu rekombinantnu molekulu nukleinske kiseline koja sadrži egzogenu nukleinsku kiselinu koja kodira transkripcijski aktivator proteina Mxr1 koji je operativno povezan s barem jednim elementom promotora alkohol oksidaze 1 (AOX1); i
 - b) drugu rekombinantnu molekulu nukleinske kiseline koja sadrži nukleinsku kiselinu koja kodira člana obitelji globina PF00042 koji je operativno povezan s barem jednim AOX1 elementom; i
 - c) rekombinantnu molekulu koja sadrži nukleinsku kiselinu koja kodira barem jedan polipeptid koji je uključen u biosintezu hema koji se odabire iz skupine koja se sastoji od ALA sintaze, ALA dehidrataze, porfobilinogen deaminaze, UPG III sintaze, UPG III dekarboksilaze, CPG oksidaze, PPG oksidaze i ferokelataze, a koji je operativno povezan s najmanje jednim elementom promotora koji se aktivira metanolom.
2. Stanica kvasca prema zahtjevu 1, pri čemu je stanica metilotrofnog kvasca stanica kvasca *Pichia pastoris*.
3. Stanica kvasca prema bilo kojem od zahtjeva od 1 do 2, pri čemu su rekombinantne molekule nukleinske kiseline stabilno integrirane u genom stanice metilotrofnog kvasca.
4. Stanica kvasca prema bilo kojem od zahtjeva od 1 do 2, pri čemu su rekombinantne molekule nukleinske kiseline ekstrakromosomski izražene iz plazmida koji je kompetentan za replikaciju.
5. Stanica kvasca prema bilo kojem od zahtjeva od 1 do 4, pri čemu sekvencija proteina Mxr1 potječe iz kvasca *Pichia pastoris*.
6. Stanica kvasca prema bilo kojem od zahtjeva od 1 do 5, pri čemu transkripcijski aktivator sadrži sekvenciju koja je navedena u bazi podataka o sekvencijama GenBank, referentni broj ABD57365 ili je transkripcijski aktivator kodiran sekvencijom nukleinske kiseline koja je navedena u bazi podataka o sekvencijama GenBank, referentni broj DQ395124.
7. Stanica kvasca prema bilo kojem od zahtjeva od 1 do 6, pri čemu element promotora alkohol oksidaze 1 (AOX1) potječe iz kvasca *Pichia pastoris*.
8. Postupak za ekspresiju člana obitelji globina PF00042 u stanici, pri čemu se postupak sastoji od:
 - dobivanja stanice kvasca prema bilo kojem od zahtjeva 1 – 7; i
 - uzgoja stanice u uvjetima koji su prikladni za ekspresiju rekombinantnih molekula nukleinske kiseline, što dovodi do ekspresije člana obitelji globina PF00042.
9. Postupak prema zahtjevu 8, pri čemu je član obitelji globina PF00042 biljni hemoglobin, po mogućnosti leghemoglobin, a najpoželjnije leghemoglobin koji sadrži sekvenciju koja se odabire iz skupine koja se sastoji od sekvencija SEQ ID BR:4 i SEQ ID BR:6.
10. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva od 8 do 9, pri čemu se uvjeti u kojima se stanice uzgajaju sastoje od dodavanja željeza ili njegove farmaceutski ili metabolički prihvatljive soli.
11. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva od 8 do 10, pri čemu se korak uzgoja sastoji od uzgajanja stanice u prisutnosti metanola.