



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20200996 T1



HR P20200996 T1

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

(51) MKP:

C12N 15/67 (2006.01)

C12N 15/70 (2006.01)

C12N 15/74 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 08.01.2021.

(21) Broj predmeta: P20200996T

(22) Datum podnošenja zahtjeva u HR: 24.06.2020.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/IB2015055189
Datum podnošenja međunarodne prijave: 09.07.2015.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 15745247.5
Datum podnošenja europske prijave patenta: 09.07.2015.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2016005931
Datum međunarodne objave: 14.01.2016.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 3167065 A1
Datum objave europske prijave patenta: 17.05.2017.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 3167065 B1
Datum objave europskog patenta: 25.03.2020.

(31) Broj prve prijave: 2245MU2014 (32) Datum podnošenja prve prijave: 09.07.2014. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: IN

(73) Nositelj patenta:

**Lupin Limited, Kalpataru Inspire, 3rd Floor, Off Western Express
Highway, Santacruz (East), Mumbai 400 055, IN**

(72) Izumitelji:

**Shardul Salunkhe, Lupin Limited (Biotechnology Division), Gate No.
1156, Ghotawade Village, Mulshi Taluka, Pune 412115, IN**

**Brajesh Varshney, Lupin Limited (Biotechnology Division), Gate No.
1156, Ghotawade Village, Mulshi Taluka, Pune 412115, IN**

**Sudheerbabu Soorapaneni, Lupin Limited (Biotechnology Division), Gate
No. 1156, Ghotawade Village, Mulshi Taluka, Pune 412115, IN**

(74) Zastupnik:

ZMP IP d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

DUALNI CISTRONSKI BAKTERIJSKI EKSPRESIJSKI SUSTAV

HR P20200996 T1

PATENTNI ZAHTJEVI

1. Postupak za proizvodnju antitijela ili njegovog fragmenta koji sadrži korake:
 - (i) transformacija bakterijske stanice domaćina s jednim vektorom koji se sastoji od dvostrukog cistroničkog ekspresijskog sustava;
 - (ii) kultiviranje transformiranih bakterijskih stanica u prikladnom mediju da se eksprimira antitijelo ili njegov fragment kao tijela za uključivanje;
 - (iii) provođenje solubilizacije navedenih tijela za uključivanje;
 - (iv) provođenje ponovnog sklapanja antitijela ili njegovog fragmenta;
 pri čemu sustav dvostruke cistroničke ekspresije sadrži:
 - a) prvi cistron koji sadrži T7 promotor operativno povezan s polinukleotidnom sekvencom koja kodira tešku lanac antitijela ili njegov fragment;
 - b) drugi cistron koji sadrži promotor arabinoze operativno povezan s polinukleotidnom sekvencom za kodiranje lakog lanca antitijela ili njegovog fragmenta;
 pri čemu su prvi i drugi cistroni smješteni u jednostrukom vektoru i izražavaju antitijelo ili fragment kao tijela za uključivanje; i
 pri čemu ekspresija teškog lanca inducira IPTG dok ekspresiju lakog lanca inducira arabinoza takva da su teški i laki lanac izraženi ekvimolarnim razinama ekspresije.
2. Postupak prema zahtjevu 1, naznačen time da je bakterijska stanica domaćin *E.coli*.
3. Postupak prema zahtjevu 1, naznačen time da dvostruki cistronski ekspresijski sustav sadrži nukleotidnu sekvencu kako je navedeno u SEQ ID br. 19.
4. Postupak prema zahtjevu 1, naznačen time da je postupak za proizvodnju Ranibizumaba i sadrži korake:
 - (i) transformiranje *E.coli* s jednim vektorom koji se sastoji od dualnog cistroničkog ekspresijskog sustava;
 - (ii) kultiviranje transformirane stanice u prikladnom mediju, pri čemu prvi i drugi cistron izražavaju teške i lake lance Ranibizumaba kao tijela za uključivanje;
 - (iii) provođenje solubilizacije navedenih tijela za uključivanje;
 - (iv) obavljanje ponovnog puštanja navedenih inkluzivnih tijela pod pogodnim uvjetima radi dobivanja funkcionalnog Ranibizumaba;
 pri čemu se prvi cistron sastoji od T7 promotora koji je operativno povezan s polinukleotidnom sekvencom koja kodira teški lanac ranibizumaba, a drugi cistron se sastoji od Arabinose promotora koji je operativno povezan s polinukleotidnom sekvencom koja kodira laki lanac Ranibizumaba; i
 pri čemu se 1mM IPTG koristi za induciranje ekspresije teškog lanca Ranibizumaba, dok se 13 mM Arabinose koristi da se inducira ekspresija lakog lanca Ranibizumaba tako da su izraženi teški i laki lanac na ekvimolarnim razinama ekspresije.