



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:



HR P20100560 T1

HR P20100560 T1

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

(51) MKP:
C12N 15/63 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 30.11.2010.

(21) Broj predmeta: P20100560T

(22) Datum podnošenja zahtjeva u HR: 14.10.2010.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/EP2004052591
Datum podnošenja međunarodne prijave: 20.10.2004.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 04791263.9
Datum podnošenja europske prijave patenta: 20.10.2004.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2005040384
Datum međunarodne objave: 06.05.2005.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 1675956 A1
Datum objave europske prijave patenta: 05.07.2006.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 1675956 B1
Datum objave europskog patenta: 13.10.2010.

(31) Broj prve prijave: 03103890

(32) Datum podnošenja prve prijave: 21.10.2003.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: EP

(73) Nositelj patenta:

(72) Izumitelji:

(74) Zastupnik:

Merck Serono SA, Centre Industriel, 1267 Coinsins, Vaud, CH
Philippe Chatellard, Avenue du Léman 62, 1005 Lausanne, CH
Markus Imhof, Chemin du Champ Pâquis 27, 1071 Chexbres, CH
PRODUCTA d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

**MINIMALNA DNK SEKVENCA KOJA DJELUJE KAO IZOLATOR KROMATINA I NJENA
UPOTREBA U EKSPRESIJI PROTEINA**

HR P20100560 T1

PATENTNI ZAHTJEVI

- 5 1. Upotreba vektora koji sadrži jedan ili više izolatora kromatina **naznačena time** da sadrži SEQ ID NO: 1 za ekspresiju gena od interesa u CHO stanici.
2. Upotreba prema zahtjevu 1, **naznačena time** da navedeni vektor nadalje sadrži barem jedan DNA element odabran od:
 - a. pojačivača ili funkcionalne ekspresije za poboljšavanje njegovih fragmenata
 - 10 b. promotorske domene ili funkcionalne ekspresije za promociju njegovih fragmenata; i
 - c. DNA sekvence kodiranja za jedan ili više polipeptida od interesa.
3. Upotreba prema zahtjevu 1 ili 2, **naznačena time** da navedeni vektor nadalje sadrži jednu ili više DNA sekvenci kodiranja za regulatorne elemente koji se biraju iz 5'UTR, introna, 3'UTR, mRNA 3' završne obrade sekvence, poliadenilacijskog mjesta, i unutarnjih ribosomskih ulaznih sekvenci (IRES).
- 15 4. Upotreba prema zahtjevu 2 ili 3, **naznačena time** da DNA sekvenca kodira više od jednog polipeptida od interesa kroz policistroničku mRNA.
5. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 4, **naznačena time** da navedeni vektor nadalje sadrži jedan ili više DNA elemenata odabranih od graničnih elemenata, lokus kontrolnih područja (LCR), matričnih vezanih regija (MAR), i elemenata za rekombinaciju i kasetnu izmjenu.
- 20 6. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 5, **naznačena time** da promotor je odabran od staničnih ili viralnih/fag promotora kao što su mCMV-IE1, mCMV-IE2, hCMV, SV40, RSV, T7, T3, ili funkcionalne ekspresije za promociju njegovog fragmenta.
7. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 6, **naznačena time** da je polipeptid od interesa odabran od FSH, LH, CG, TSH, hormona rasta, interferona, TNF vezujućeg proteina I, TNF vezujućeg proteina II, IL-18BP, IL-6, IFNAR1, LIF ili muteina, fragmenata, funkcionalnih derivata, te njegovih fuzijskih proteina.
- 25 8. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 6, **naznačena time** da je polipeptid od interesa odabran od EPO, G-CSF, GM-CSF, lanca humaniziranih antitijela, citokina, koagulacijskog faktora, etanercepta, tPA, integrina ili muteina, fragmenata, funkcionalnih derivata, te njegovih fuzijskih proteina.
9. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 6 **naznačena time** da je polipeptid od interesa odabran od adenozin deaminaze (ADA), aminoglikozidne fosfotransferaze (neo), dihidrofolatne reduktaze (DHFn), higromicin-B-fosfotransferaze (HPH), timidin kinaze (tk), ksantin-gvanin fosforiboziltransferaze (gpt), multiplog gena otpornog na lijek (MOR), ornitin dekarboksilaze (ODC) i rezistentne N-(fosfonacetil)-L-aspartaze (CAD), puomicin aktiltransferaze (PAC), galaktokinaze, humanog folatnog receptora, ili reduciranih folatnih nosača.
- 30 10. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 6, **naznačena time** da je polipeptid od interesa odabran od luciferaze, zelenog fluorescentnog proteina, alkalne fosfataze i hren peroksidaze ili njihovih kombinacija.
- 35 11. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, **naznačena time** da jedan izolator je smješten uzvodno i jedan izolator je smješten nizvodno od DNA koja kodira polipeptid od interesa.
12. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 10, **naznačena time** da su barem dva izolatora smještena uzvodno i nizvodno od DNA sekvence koja kodira odgovarajući polipeptid od interesa.
- 40 13. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 11 ili 12, **naznačena time** da su barem dvije kodirajuće sekvence smještene između izolatora.
14. Upotreba prema zahtjevu 13, **naznačena time** da barem dvije kodirajuće sekvence kodiraju podjedinice multimernog proteina.
15. Upotreba prema zahtjevu 14, **naznačena time** da prva podjedinica je alfa lanac i druga podjedinica je beta lanac hormona odabranog od humanog FSH, humanog LH, humanog TSH i humanog CG.
- 45 16. Upotreba prema zahtjevu 14, **naznačena time** da prva podjedinica je beta lanac i druga podjedinica je alfa lanac hormona odabranog od humanog FSH, humanog LH, humanog TSH i humanog CG.
17. Upotreba prema zahtjevu 14, **naznačena time** da prva podjedinica je teški lanac i druga podjedinica je lagani lanac imunoglobulina.
- 50 18. Upotreba prema zahtjevu 14, **naznačena time** da prva podjedinica je lagani lanac i druga podjedinica je teški lanac imunoglobulina.
19. Upotreba prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 18 **naznačena time** da je za istovremenu ekspresiju dva ili više gena ili DNA od interesa.
20. CHO stanica **naznačena time** da je transfekcirana sa vektorom kako je definirano u bilo kojem od zahtjeva 1 do 19.
- 55 21. Postupak za dobivanje polipeptida od interesa **naznačen time** da sadrži korak transfekcije CHO stanice sa barem jednim vektorom kako je definirano u bilo kojem od zahtjeva 1 do 18.
22. Postupak za dobivanje polipeptida od interesa **naznačen time** da sadrži korak uzgoja CHO stanica prema zahtjevu 20.
23. Postupak prema zahtjevu 21 ili 22, **naznačen time** da nadalje sadrži korak izolacije polipeptida od interesa iz CHO stanica.
- 60 24. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 21 do 23, **naznačen time** da transfekcija je stabilna transfekcija.

```

A -----
B GAGCTCAGCGGGACAGCCCCCCCCCAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCG

A -----GCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCC
B CTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGGGCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCC

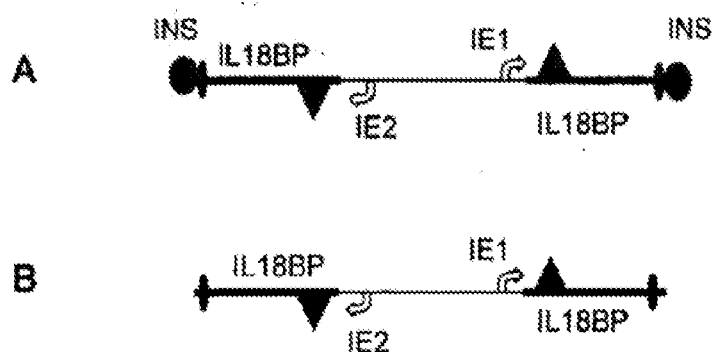
A CCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGAAGGTGGCACGGGATCGCTTTC
B CCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGAAGGTGGCACGGGATCGCTTTC

A CTCTGAACGCTTCTCGCTG-TCTTTGAGCCTGCAGACACCTGGGGGATACGGGGAAAAA-
B CTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTGGGGGATACGGGGAAAAAG

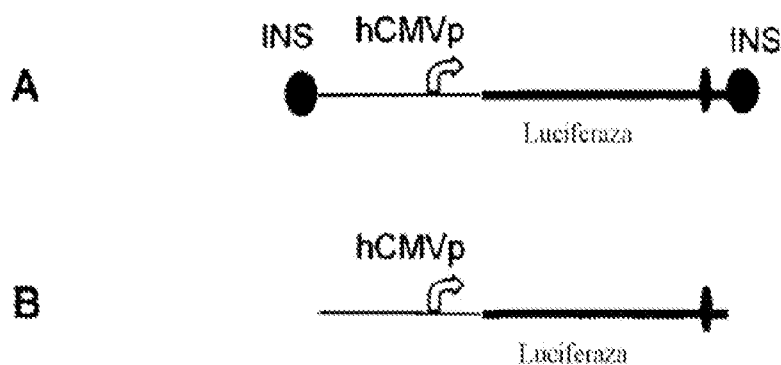
A -----
B CTTTAGGCTG

```

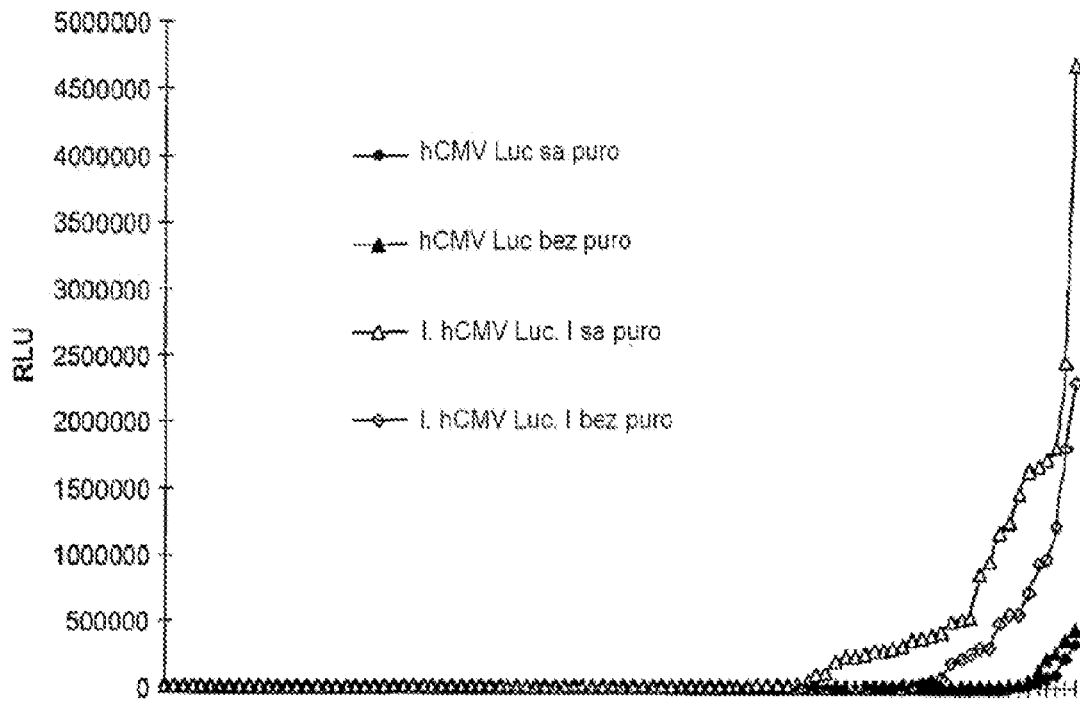
Slika 1



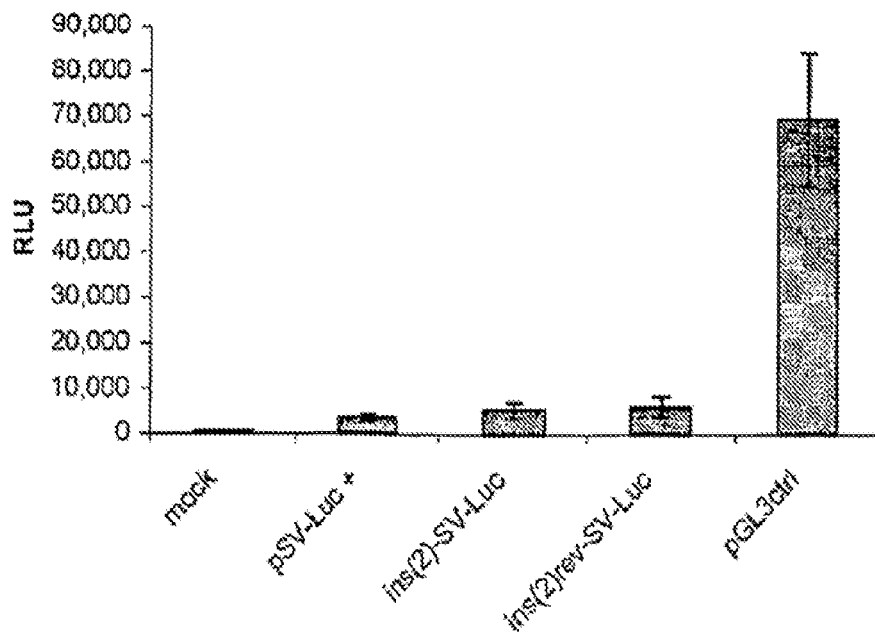
Slika 2



Slika 3



Slika 4



Slika 5