

(19)



SUOMI - FINLAND  
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS  
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN  
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10)

**FI/EP3630967 T3**

(12)

**EUROOPPAPATENTIN KÄÄNNÖS  
ÖVERSÄTTNING AV EUROPEISKT PATENT  
TRANSLATION OF EUROPEAN PATENT SPECIFICATION**

(45)

Käännöksen kuulutuspäivä - Kungörelsedag av översättning -  
Translation available to the public

**12.08.2024**

(97)

Eurooppapatentin myöntämispäivä - Meddelandedatum för  
det europeiska patentet - Date of grant of European patent

**12.06.2024**

(51)

Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassificering -  
International patent classification  
**C12N 9/24** ( 2006 . 01 )  
**C12Q 1/37** ( 2006 . 01 )  
**G01N 33/68** ( 2006 . 01 )  
**C12N 9/52** ( 2006 . 01 )

(96)

Eurooppapatenttihakemus - Europeisk patentansökan -  
European patent application

**EP18728576.2**

(22)

Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date

**25.05.2018**

(97)

Patenttihakemuksen julkiseksitulosopäivä - Patentansökans  
publiceringsdag - Patent application available to the public

**08.04.2020**

(86)

Kansainvälinen hakemus - Internationell  
ansökan - International application

**25.05.2018 PCT/EP2018063832**

(30)

Etuoikeus - Prioritet - Priority

26.05.2017 GB GB201708471  
24.04.2018 GB GB201806655

26.05.2017 GB GB201708476

(73)

Haltija - Innehavare - Holder

**1• Genovis AB**, Box 4, 244 21 Kaevlinge, (SE)

(72)

Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1• LEO, Fredrik**, 244 21 Kaevlinge, (SE)  
**2• LOOD-ALAYÓN, Rolf**, 244 21 Kaevlinge, (SE)  
**3• BJORK, Stephan**, 244 21 Kaevlinge, (SE)  
**4• MEJARE, Malin**, 244 21 Kaevlinge, (SE)  
**5• OLSSON, Fredrik**, 244 21 Kaevlinge, (SE)

(74)

Asiamies - Ombud - Agent

**Papula Oy**, P.O.Box 981, 00101 Helsinki, (FI)

(54)

Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**PROTEAASI JA SITOUTUVA POLYPEPTIDI O-GLYKOPROTEIINEJA VARTEN  
PROTEASE AND BINDING POLYPEPTIDE FOR O-GLYCOPROTEINS**

**PATENTTIVAATIMUKSET**

1. Koostumus, joka käsittää polypeptidin, jolla on endoproteaasiaktiivisuus, joka on spesifinen O-glykosyloiduille proteiineille, joka polypeptidi käsittää:

(a) sekvenssin SEQ ID NO: 1 mukaisen aminohapposekvenssin;

(b) aminohapposekvenssin, joka on vähintään 85-prosenttisesti identtinen sekvenssin SEQ ID NO: 1 mukaiseen aminohapposekvenssiin nähden; tai

(c) aminohapposekvenssin, joka on sekvenssin SEQ ID NO: 1 mukaisen sekvenssin fragmentti tai sekvenssin SEQ ID NO: 1 mukaiseen aminohapposekvenssiin nähden 85-prosenttisesti identtisen aminohapposekvenssin fragmentti,

jossa koostumus edelleen käsittää sialidaasin Am1757 tai Am1757:n ja Am0707:n seoksen, jossa Am1757 on jonkin sekvensseistä SEQ ID NO: 9 - 11 mukainen polypeptidi ja Am0707 on jonkin sekvensseistä SEQ ID NO: 12 - 14 mukainen polypeptidi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, jossa polypeptidillä on aminohapposekvenssi, joka on vähintään 85-prosenttisesti identtinen sekvenssin SEQ ID NO: 1 mukaiseen aminohapposekvenssiin nähden tai sen fragmentti, se käsittää motiivin HEbbH, jossa b on varaukseton aminohappo, valinnaisesti A, C, F, G, I, L, M, N, P, Q, S, T, V tai W, ja valinnaisesti jossa mainittu motiivi on läsnä mainituissa polypeptidissä asemissa, jotka vastaavat sekvenssin SEQ ID NO: 1 mukaisia asemia 181 - 185.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen koostumus, jossa mainittu motiivi käsittää sekvenssin HEIGH tai HELGH, edullisesti HELGH.

4. Jonkin edellisistä patenttivaatimuksista mukainen koostumus, jossa polypeptidi käsittää motiivin abxHEbbHbc, jossa:

(a) a on aminohappo V, T tai G;

(b) b on varaukseton aminohappo, valinnaisesti A, C, F, G, I, L, M, N, P, Q, S, T, V tai W;

(c) x on mikä tahansa aminohappo; ja

5 (d) c on hydrofobinen aminohappo, valinnaisesti A, C, F, I, L, M, P, V, W tai Y;

valinnaisesti jossa mainittu motiivi käsittää sekvenssin GMAHELGHGL tai GVAHELGHNF, edullisesti GMAHELGHGL.

10 5. Jonkin edellisistä patenttivaatimuksista mukainen koostumus, jossa polypeptidi

(a) sisältää lisämetioniinin N-terminuksessa ja/tai His-leiman C-terminuksessa, joka leima voi olla liitetty C-terminukseen linkkerillä, valinnaisesti  
15 jossa mainittu polypeptidi käsittää sekvenssin SEQ ID NO: 2 mukaisen aminohapposekvenssin tai koostuu sekvenssin SEQ ID NO: 2 mukaisesta aminohapposekvenssistä; tai

(b) on järjestetty liuokseen, lyofilisoitu tai  
20 immobilisoitu, valinnaisesti jossa Am1757 on polypeptidi, joka koostuu sekvenssistä SEQ ID NO: 11, ja/tai jossa Am0707 on polypeptidi, joka koostuu sekvenssistä SEQ ID NO: 14.

6. Menetelmä O-glykoproteiinin hydrolysoimiseksi, jossa menetelmä käsittää O-glykoproteiinin käsittävän näytteen saattamisen kontaktiin jonkin patenttivaatimuksista 1 - 5 mukaisen koostumuksen kanssa ja siten O-glykoproteiinin hydrolysoimisen, joka menetelmä valinnaisesti edelleen käsittää hydrolyysituotteiden  
30 detektoinnin tai analysoinnin.

7. Menetelmä proteiinin glykosylaatiotilan määrittämiseksi, joka menetelmä käsittää proteiinin käsittävän näytteen saattamisen kontaktiin jonkin patenttivaatimuksista 1 - 5 mukaisen koostumuksen kanssa ja  
35 tuotettujen tuotteiden detektoimisen ja/tai analysoimisen, valinnaisesti jossa pilkontatuotteiden läsnäoloa tai puuttumista käytetään O-glykoproteiinin läsnäolon

tai puuttumisen määrittämiseen näytteestä, ja/tai jossa mainittu analysointi suoritetaan O-glykaaniketjun tyyppin ja/tai sen O-glykoproteiiniin kiinnittymiskohdan tunnistamiseksi.

5                   8. Patenttivaatimuksen 6 tai 7 mukainen menetelmä, jossa analysointi tai detektointi suoritetaan jollakin seuraavista: affiniteettikromatografia, SDS-PAGE, HPLC tai massaspektrometria.

                  9. Koostumus, joka käsittää polypeptidin, joka  
10 pystyy sitoutumaan O-glykaaniin tai O-glykoproteiiniin ja jolta puuttuu tai jolla on alentunut endoproteaasiaktiivisuus, joka on spesifinen O-glykosyloidoille proteiineille, ja joka polypeptidi käsittää sekvenssin SEQ ID NO: 5 tai SEQ ID NO: 20 mukaisen aminohapposekvenssin,  
15 jossa koostumus edelleen käsittää sialidaasin Am1757 tai Am1757:n ja Am0707:n seoksen, jossa Am1757 on jonkin sekvensseistä SEQ ID NO: 9 - 11 mukainen polypeptidi ja Am0707 on jonkin sekvensseistä SEQ ID NO: 12 - 14 mukainen polypeptidi.

20                   10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen koostumus, jossa polypeptidi:

                  (a) sisältää lisämetioniinin N-terminuksessa ja/tai His-leiman C-terminuksessa, joka leima voi olla liitetty C-terminukseen linkkerillä, valinnaisesti  
25 jossa mainittu polypeptidi käsittää sekvenssin SEQ ID NO: 6 tai 21 mukaisen aminohapposekvenssin tai koostuu sekvenssin SEQ ID NO: 6 tai 21 mukaisesta aminohapposekvenssistä; ja/tai

                  (b) on järjestetty liuokseen, lyofilisoitu tai  
30 immobilisoitu.

                  11. Menetelmä O-glykaaniin, O-glykopeptidiin ja/tai O-glykoproteiiniin sitoutumisen aikaansaamiseksi, jossa menetelmä käsittää O-glykaanin, O-glykopeptidin ja/tai O-glykoproteiinin käsittävän näytteen  
35 saattamisen kontaktiin patenttivaatimuksen 9 tai 10 mukaisen koostumuksen kanssa, ja valinnaisesti sen määrittämisen, onko O-glykaani, O-glykopeptidi ja/tai O-

glykoproteiini sitoutunut, ja/tai O-glykaanin ja minkä tahansa siihen liittyvän glykoproteiinin, O-glykopeptidin tai O-glykoproteiinin erottamisen tuloksena olevasta seoksesta; valinnaisesti jossa menetelmä on tarkoitettu O-glykaanin tai siihen liittyvän glykoproteiinin, O-glykopeptidin tai O-glykoproteiinin eristämiseen näytteestä.

12. Menetelmä proteiinin glykosylaatiotilan määrittämiseksi, joka menetelmä käsittää proteiinin käsittävän näytteen saattamisen kontaktiin jonkin patenttivaatimuksista 9 tai 10 mukaisen koostumuksen kanssa ja sen määrittämisen, sitooko polypeptidi proteiinia.

13. Menetelmä O-glykopeptidien ja/tai O-glykoproteiinien detektoimiseksi näytteestä, jossa menetelmä käsittää seuraavaa:

(a) saatetaan mainittu näyte kontaktiin patenttivaatimuksen 9 tai 10 mukaisen koostumuksen kanssa kompleksin muodostuksen mahdollistamiseksi siten O-glykopeptidin ja/tai O-glykoproteiinin ja polypeptidin välillä;

(b) valinnaisesti erotetaan polypeptidi kontaktiin saatetusta näytteestä; ja

(c) määritetään, onko erotettu polypeptidi sitoutunut O-linkittyneeseen glykoproteiiniin tai glykopeptidiin, minkä perusteella määritetään O-linkittyneiden glykopeptidien tai glykoproteiinien läsnäolo tai puuttuminen näytteestä.

14. Jonkin patenttivaatimuksista 11 - 13 mukainen menetelmä,

(a) jossa mainittu määrittäminen ja/tai erottaminen suoritetaan jollakin seuraavista: affiniteettikromatografia, SDS-PAGE, HPLC, lektiiniblottaus, ELISA tai massaspektrometria; ja/tai

(b) joka lisäksi käsittää vaiheen, jossa eluoidaan sitoutunut materiaali patenttivaatimuksen 10 tai 11 mukaisesta polypeptidistä puskurilla, joka käsittää:

(a) korkean molaarisen konsentraation ureaa;

(b) korkean konsentraation detergenttiä; tai

5

(c) jonkin patenttivaatimuksista 1 - 5 mukaisen polypeptidin, jolla on endoproteaasiaktiivisuus, joka on spesifinen O-glykosyloiduille proteiineille.