



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 2529020 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**C12N 15/86 (2006.01)**  
**C12N 7/02 (2006.01)**

**Norwegian Industrial Property Office**

---

|      |                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) | Translation Published                                                      | 2018.10.01                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (80) | Date of The European<br>Patent Office Publication of<br>the Granted Patent | 2018.04.25                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (86) | European Application Nr.                                                   | 11737508.9                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (86) | European Filing Date                                                       | 2011.01.25                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (87) | The European Application's<br>Publication Date                             | 2012.12.05                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (30) | Priority                                                                   | 2010.01.28, US, 299184 P                                                                                                                                                                                                                                                   |
| (84) | Designated Contracting<br>States:                                          | AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ;<br>IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ;<br>SK ; SM ; TR                                                                          |
| (73) | Proprietor                                                                 | The Children's Hospital of Philadelphia, 3401 Civic Center Boulevard, Philadelphia,<br>PA 19104, US-USA                                                                                                                                                                    |
| (72) | Inventor                                                                   | WRIGHT, John, Fraser, 68 River Birch Circle, Princeton, NJ 08540, US-USA<br>QU, Guang, 22 Beaver Dam Drive, Sicklerville, NJ 08081, US-USA<br>HAUCK, Bernd, 147 Maddock Avenue, Hamilton, NJ 08610, US-USA<br>HIGH, Katherine, 201 Greenway Lane, Merion, PA 19066, US-USA |
| (74) | Agent or Attorney                                                          | ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge                                                                                                                                                                                                                      |

---

|      |                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (54) | Title                | <b>A SCALABLE MANUFACTURING PLATFORM FOR VIRAL VECTOR PURIFICATION AND<br/>VIRAL VECTORS SO PURIFIED FOR USE IN GENE THERAPY</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| (56) | References<br>Cited: | US-A1- 2007 243 615, OKADA T ET AL: "Scalable Purification of Adeno-associated Virus<br>Serotype 1 (AAV1) and AAV8 Vectors, Using Dual Ion-Exchange Adsorptive Membranes",<br>HUMAN GENE THERAPY, vol. 20, no. 9, 1 September 2009 (2009-09-01), pages 1013-1021,<br>XP055073581, ISSN: 1043-0342, DOI: 10.1089/hum.2009.006, US-A1- 2006 035 364, HAUCK<br>B ET AL: "Process characterisation and GMP Manufacture of a Gene Transfer Vector for Leber<br>Congenital Amaurosis", MOLECULAR THERAPY, vol. 15, no. supp 1, 432, May 2007 (2007-05),<br>page S167, XP002712090,, MAGUIRE A M ET AL: "Safety and Efficacy of Gene Transfer for<br>Leber's Congenital Amaurosis", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 358, no. 21, 22<br>May 2008 (2008-05-22), pages 2240-2248, XP055027817, ISSN: 0028-4793, DOI:<br>10.1056/NEJMoa0802315, AYUSO E ET AL: "High AAV vector purity results in serotype- and<br>tissue-independent enhancement of transduction efficiency", GENE THERAPY, vol. 17, no. 4, 3<br>December 2009 (2009-12-03), pages 503-510, XP055073587, ISSN: 0969-7128, DOI:<br>10.1038/gt.2009.157, MAGUIRE A M ET AL: "Slides to the Discussion of Human Gene Transfer |

Protocol #0510-740", 102nd meeting of the Recombinant DNA Advisory Committee (RAC), NIH Office of Biotechnology Activities, Bethesda, Maryland, USA, 13 December 2005 (2005-12-13), pages 1-49, XP055073564, Retrieved from the Internet: URL:[http://webconferences.com/nihoba/740\\_MaGuire.pdf](http://webconferences.com/nihoba/740_MaGuire.pdf) [retrieved on 2013-07-30], HAUCK B ET AL: "A scalable Manufacturing Platform for Purification of AAV Serotypes 2, 5, 6 and 8 for IND-Supporting Pre-Clinical Studies and Clinical Trials", MOLECULAR THERAPY, vol. 17, no. supp 1, 41, May 2009 (2009-05), page S17, XP002712089,, MAGUIRE A M ET AL: "Supplementary Appendix to MAGUIRE A M et al., N ENGL J MED;358;2240-8", New England Journal of Medicine, vol. 358 22 May 2008 (2008-05-22), pages 1-50, XP055073559, DOI: 10.1056/NEJMoa0802315 Retrieved from the Internet: URL:<http://www.nejm.org/action/showSupplements?doi=10.1056%2FNEJMoa0802315> [retrieved on 2013-07-30], WRIGHT J F ET AL: "Manufacturing and Regulatory Strategies for Clinical AAV2-hRPE65", CURRENT GENE THERAPY, vol. 10, no. 5, 1 October 2010 (2010-10-01), pages 341-349, XP055073585,, WO-A1-2005/118792, WRIGHT J F: "Adeno-associated Virus Vectors to Support Clinical Studies", Presentation at the 11th Annual Meeting of the American Society for Gene Therapy, 28 May 2008, Boston, USA, , 28 May 2008 (2008-05-28), XP002712088, Retrieved from the Internet: URL:[www.gtrp.org/docs/CHOP%20AAV%20Lab\\_5.28.08.ppt](http://www.gtrp.org/docs/CHOP%20AAV%20Lab_5.28.08.ppt) [retrieved on 2013-07-30], WO-A1-2008/128251

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

**Patentkrav**

**1.** Fremgangsmåte for rensing av *bona fide* adenoassosierte virus(AAV)-

vektorpartikler omfattende et transgen som koder for et terapeutisk protein eller fragment derav fra et AAV-preparat omfattende AAV-vektorpartikler, tomme kapsider og vertscelleurenheter, hvilken fremgangsmåte omfatter:

a) høste celler og cellesupernatant omfattende AAV-partikler;

b) konsentrere cellene og supernatanten via tangentiell strømningsfiltrering

c) lysere cellene ved mikrofluidisering for å danne et lysat;

d) filtrere og derved klargjøre lysatet i trinn c);

e) rense AAV-partikler som omfatter *bona fide* AAV-vektorpartikler ved ionebytterkolonnekromatografi for å fremstille et eluat og eventuelt deretter konsentrere kolonneeluat ved tangentiell strømningsfiltrering;

f) blande eluatet med cesiumklorid og utsette blandingen for gradient ultrasentrifugering for å separere *bona fide* AAV-vektorer fra AAV-vektorrelaterte urenheter;

g) samle AAV-partikler omfattende *bona fide* AAV-vektorpartikler separert i trinn

f) og utsette det samme for en bufferutveksling ved tangentiell

strømningsfiltrering;

h) formulere AAV-partiklene omfattende *bona fide* AAV-vektorpartikler fra trinn

g) med overflateaktivt middel for å tilveiebringe en AAV-partikkelformulering;

i) filtrere formuleringen fra trinn h) for å fjerne resterende urenheter, hvor *bona fide* AAV-vektorpartiklene er til stede i det resulterende filtratet i en mengde på minst 90 %.

**2.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori *bona fide* AAV-vektorpartiklene er

avledet fra en AAV valgt fra gruppen bestående av AAV1, AAV2, AAV5, AAV6, AAV8 og AAV9.

**3.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori transgenet koder for en nukleinsyre

valgt fra gruppen bestående av et siRNA, et antisens-molekyl og et miRNA-ribozym og

et shRNA.

**4.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori transgenet koder for et genprodukt valgt fra gruppen bestående av insulin, glukagon, veksthormon (GH),

parathyroideahormon (PTH), veksthormonfrigivelsesfaktor (FFF),  
 follikkelstimulerende hormon (FSH),  
 luteiniserende hormon (LH), humant koriongonadotropin (hCG), vaskulær  
 endotelvekstfaktor (VEGF), angiopoietiner, angiostatin,  
 5 granulocyttkolonistimulerende faktor (GCSF), erytropoietin (EPO),  
 bindevevsvekstfaktor (CTGF), basisk fibroblastvekstfaktor (bFGF), sur  
 fibroblastvekstfaktor (aFGF), epidermal vekstfaktor (EGF), transformerende  
 vekstfaktor  $\alpha$ (TGF $\alpha$ ), blodplateavledet vekstfaktor (PDGF), insulinvekstfaktorer I  
 og II (IGF-I og IGF-II), TGF $\beta$ , aktiviner, inhibiner, benmorfogent protein (BMP),  
 10 nervevekstfaktor (NGF), hjerneavledet nevrotrofisk faktor (BDNF), nevrotrofiner  
 NT-3 og NT4 / 5, ciliær nevrotrofisk faktor (CNTF), glial cellelinje-avledet  
 nevrotrofisk faktor (GDNF), neurturin, agrin, netrin-1 og netrin-2,  
 hepatocyttevekstfaktor (HGF), efriner, noggin, sonic hedgehog og  
 tyrosinhydroksylase.

15 **5.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori transgenet koder for et genprodukt valgt  
 fra gruppen bestående av trombopoietin (TPO), interleukiner (IL1 til IL-17),  
 monocytt-kjemoattraksjonantprotein, leukemiinhiberende faktor, granulocytt-  
 makrofagkolonistimulerende faktor, Fas-ligand, tumornekrosefaktorer  $\alpha$  og  $\beta$ ,  
 20 interferoner  $\alpha$ ,  $\beta$  og  $\gamma$ , stamcellefaktor, flk-2-/flt3-ligand, IgG, IgM, IgA, IgD og  
 IgE, kimære immunoglobuliner, humaniserte antistoffer, enkeltkjedeantistoffer,  
 T-cellerreseptorer, kimære T-cellerreseptorer, enkeltkjede-T-cellerreseptorer,  
 klasse I og klasse II MHC-molekyler.

25 **6.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori transgenet omfatter en nukleinsyre som  
 koder for et protein som er anvendelig for korreksjon av medfødte  
 metabolismefeil valgt fra gruppen bestående av karbamoylsyntetase I,  
 ornitintranskarbamylase, arginosuccinatsyntetase, arginosuccinatyase, arginase,  
 fumarylacetatethydrolase, fenylalaninhydroksylase,  
 30 alfa-1-antitrypsin, glukose-6-fosfatase, porfobilinogen deaminase, faktor V,  
 faktor VIII, faktor IX, cystathion beta-syntase, forgrenet  
 ketosyredekarboksylase, albumin, isovaleryl-coA-dehydrogenase, propionyl CoA-  
 karboksylase, metylmalonyl-CoA-mutase, glutaryl-CoA-dehydrogenase, insulin,  
 beta-glukosidase, pyruvatkarboksylat, hepatisk fosforylase, fosforylase-kinase,  
 35 glycin-dekarboksylase, RPE65, H-protein, T-protein, en cystisk fibrose-  
 transmembranregulator(CFTR)-sekvens og en dystrofin-cDNA-sekvens.

**7.** Fremgangsmåten ifølge krav 6, hvori genproduktet er Faktor VIII.

**8.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori tomme kapsider er til stede i filtratet i trinn i) i en mengde på 10 % eller mindre.

5

**9.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori *bona fide* AAV vektorpartikler er til stede i filtratet i trinn i) i en mengde på minst 95 %.

**10.** Fremgangsmåten ifølge krav 9, hvori tomme kapsider er til stede i filtratet i trinn i) i en mengde på 5 % eller mindre.

10

**11.** Fremgangsmåten ifølge krav 6, hvori genproduktet er Faktor IX.