



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2623605 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/864 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.05.13
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.11.28
(86)	European Application Nr.	13154078.3
(86)	European Filing Date	2008.04.08
(87)	The European Application's Publication Date	2013.08.07
(30)	Priority	2007.04.09, US, 910798 P
(84)	Designated Contracting States:	AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; TR
(62)	Divided application	EP2191001, 2008.04.08
(73)	Proprietor	University of Florida Research Foundation, Inc., P.O. Box 115500, Gainesville, FL 32611, USA
(72)	Inventor	Zhong, Li, 2601 NW 23rd Blvd. Apt 142, Gainesville, FL Florida 32605, USA Zolotukhin, Sergei, 1122 SW 96, Gainesville, FL Florida 32607, USA Govindasamy, Lakshmanan, 908 SW 16th Avenue, Gainesville, FL Florida 32601, USA Agbandje-McKenna, Mavis, 10202 SW 17th Place, Gainesville, FL Florida 32607, USA Srivastava, Arun, 3823 SW 92nd Drive, Gainesville, FL Florida 32608, USA
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	RAAV vector compositions having tyrosine-modified capsid proteins and methods for use
(56)	References Cited:	WO-A-03/006616 US-B1- 7 052 692 WO-A2-2006/110689 WO-A2-03/052052 ZHONG LI ET AL: "A dual role of EGFR protein tyrosine kinase signaling in ubiquitination of AAV2 capsids and viral second-strand DNA synthesis.", MOLECULAR THERAPY : THE JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF GENE THERAPY JUL 2007, vol. 15, no. 7, July 2007 (2007-07), pages 1323-1330, XP002493283, ISSN: 1525-0024 LOCHRIE MICHAEL A ET AL: "Mutations on the external surfaces of adeno-associated virus type 2 capsids that affect transduction and neutralization", JOURNAL OF VIROLOGY, THE

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 80, no. 2, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 821-834, XP002454219, ISSN: 0022-538X

YAN Z ET AL: "Ubiquitination of both adeno-associated virus type 2 and 5 capsid proteins affects the transduction efficiency of recombinant vectors", JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 76, no. 5, 1 March 2002 (2002-03-01), pages 2043-2053, XP002962242, ISSN: 0022-538X

ZHONG LI ET AL: "Evaluation of primitive murine hematopoietic stem and progenitor cell transduction in vitro and in vivo by recombinant adeno-associated virus vector serotypes 1 through 5", HUMAN GENE THERAPY, vol. 17, no. 3, March 2006 (2006-03), pages 321-333, XP002493282, ISSN: 1043-0342

ZHONG LI ET AL: "Next generation of adeno-associated virus 2 vectors: point mutations in tyrosines lead to high-efficiency transduction at lower doses.", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 3 JUN 2008, vol. 105, no. 22, 3 June 2008 (2008-06-03) , pages 7827-7832, XP002493284, ISSN: 1091-6490

LE MEUR G ET AL: "Restoration of vision in RPE65-deficient Briard dogs using an AAV serotype 4 vector that specifically targets the retinal pigmented epithelium.", GENE THERAPY FEB 2007, vol. 14, no. 4, February 2007 (2007-02), pages 292-303, XP002493281, ISSN: 0969-7128

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. Rekombinant adenoassosiert virusvektor (rAAV-vektor) som omfatter en tyrosin-til-fenylalaninmutasjon av en overflateeksponert tyrosinrest på sitt kapsidprotein, hvori tyrosin-til-fenylalaninmutasjonen er i en posisjon som tilsvarer Tyr444 til villtype-AAV2-

5 kapsidproteinet slik at transduksjonseffektiviteten i en pattedyrceile til vektoren som omfatter det muterte kapsidproteinet er høyere enn den til et tilsvarende AAV som opprettholder de overflateeksponerte tyrosinrestene i kapsidproteinet.

2. Rekombinant adenoassosiert virusvektor (rAAV-vektor) som omfatter en mutert
10 overflateeksponert tyrosinrest på sitt kapsidprotein, hvori den muterte overflateeksponerte tyrosinresten tilsvarer Tyr730 til villtype-AAV2-kapsidproteinet slik at transduksjonseffektiviteten i en pattedyrceile til vektoren som omfatter det muterte kapsidproteinet er høyere enn den til et tilsvarende AAV som opprettholder de overflateeksponerte tyrosinrestene i kapsidproteinet.

15 3. rAAV-vektoren ifølge krav 2, hvori den muterte overflateeksponerte tyrosinresten er en tyrosin-til-fenylalaninmutasjon.

4. rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor den ytterligere
20 omfatter minst et første nukleinsyresegment som koder for minst ett terapeutisk agens.

5. rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den ytterligere omfatter en enhancer sekvens, hvor enhanceren fortrinnsvis er valgt fra gruppen som består av en KMV enhancer, en syntetisk enhancer, en lever-spesifikk enhancer, en vaskulær-spesifikk
25 enhancer, en hjerne-spesifikk enhancer, en nervecelle-spesifikk enhancer, en lunge-spesifikk enhancer, en muskel-spesifikk enhancer, en nyre-spesifikk enhancer, en bukspyttkjertel-spesifikk enhancer, og en øycelle-spesifikk enhancer.

6. rAAV vektoren ifølge krav 4 eller 5, hvor ekspresjonen av det terapeutiske midlet er
30 kontrollert av en promoter i hvilken promoteren er en heterolog, vevs-spesifikk, konstitutiv eller induserbar promoter, og fortrinnsvis én valgt fra gruppen som består av en KMV promoter, en β -aktin promoter, en insulin promoter, en enolase promoter, en BDNF promoter, en NGF promoter, en EGF promoter, en vekstfaktor promoter, en akson-spesifikk promoter, en dendritt-spesifikk promoter, en hjerne-spesifikk promoter, en hippocampus-spesifikk
35 promoter, en nyre-spesifikk promoter, en elafin promoter, en cytokin promoter, en interferon promoter, en vekstfaktor promoter, en α_1 -antitrypsin promoter, en hjerne-spesifikk promoter, en neural celle-spesifikk promoter, en sentral nervesystem celle-spesifikk promoter, en perifer nervesystem celle-spesifikk promoter, en interleukin promoter, en serpin promoter, en hybrid

KMV promoter, en hybrid β -aktin promoter, en EF1 promoter, en U1a promoter, en U1b promoter, en Tet-induserbar promoter og en VP16-LeksA promoter.

7. rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 4 til 6, hvor den minst et første nukleinsyre-segment er ytterligere operativt bundet til en post-transkripsjon regulatorisk sekvens eller et polyadenyleringssignal, og fortrinnsvis til et skogmurmeldyr hepatitt virus post-transkripsjon regulatorisk element.

8. rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 4 til 7, hvor det terapeutiske midlet er valgt fra gruppen som består av et polypeptid, et peptid, et antistoff, et antigenbindende fragment, et ribozym, en peptid nukleinsyre, et siRNA, et RNAi, et antisense oligonukleotid og et antisense polynukleotid; fortrinnsvis hvor det terapeutiske midlet er et protein eller polypeptid valgt fra gruppen som består av en adrenerg agonist, en anti-apoptose faktor, en apoptose inhibitor, en cytokine reseptor, et cytokin, et cytotoxin, et erytropoietisk agens, en glutaminsyre dekarboksylase, et glykoprotein, en vekstfaktor, en vekstfaktorreseptor, et hormon, en hormonreseptor, et interferon, et interleukin, en interleukinreseptor, en kinase, en kinaseinhibitor, en nervevekstfaktor, en netrin, et neuroaktivt peptid, en neuroaktiv peptidreseptor, en nevrogen faktor, en nevrogen faktor reseptor, et nevpilin, en nevrotrofisk faktor, et nevrotrofin, en nevrotrofinreseptor, en N-metyl-D-aspartate antagonist, et pleksin, en protease, en proteaseinhibitor, en protein-dekarboksylase, en proteinkinase, en proteinkinase inhibitor, et proteolytisk protein, en proteolytisk proteininhibitor, et semaforin" en semaforinreseptor, et serotonin transportprotein, en serotonin opptakinhibitor, en serotonin reseptor, et serpin, en serpinreseptor, og en tumorsuppressor; og mer foretrukket, hvor det terapeutiske midlet er et polypeptid valgt fra gruppen som består av BDNF, KNTF, KSF, EGF, FGF, G-SKF, GM-KSF, gonadotropin, IFN, IFG-1, M-KSF, NGF, PDGF, PEDF, TGF, TGF-B2, TNF, VEGF, prolaktin, somatotropin, KSIAP1, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-10(I87A), virus IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, og IL-18.

9. rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 4 til 8, hvor det første nukleinsyresegmentet omfatter en sekvens region som koder for et peptid, polypeptid, antistoff, eller antigenbindende fragment av human, muse-, fugle-, grise-, storfe-, saue-, katte-, hunde-, heste-, epine, geite-, ulve- eller ikke-human primat opprinnelse.

10. rAAV-vektoren ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, hvori rAAV vektoren er en rekombinant serotype 1 en adenoassosiert virusvektor (rAAV1), er en rekombinant serotype 2 adenoassosiert virusvektor (rAAV2), er en rekombinant serotype 3 adenoassosiert virusvektor (rAAV3), er en rekombinant serotype 4-adenoassosiert virusvektor

(rAAV4), er en rekombinant serotype 5-adoassosiert virusvektor (rAAV5), eller er en rekombinant serotype 6-adoassosiert virusvektor (rAAV6).

11. rAAV-vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvori rAAV-vektoren er en rekombinant serotype 2 adenoassosiert virusvektor (rAAV2).

12. En isolert pattedyrvertscelle som omfatter rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, fortrinnsvis en isolert pattedyrvertscelle valgt fra gruppen som består av en human, ikke-human primat-, muse-, katte-, hunde-, grise-, saue-, storfe-, heste-, epine-, geite- og ulve- vertscelle; og mer foretrukket en isolert human endotel-, epitel-, vaskulær-, lever-, lunge-, hjerte-, bukspyttkjertel-, tarm-, nyre-, muskel-, bein-, nerve-, blod-, eller hjerne-celle.

13. rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11 for anvendelse i terapi.

14. rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11 for anvendelse ved forebygging, behandling eller lindring av ett eller flere symptomer på en sykdom, skade, forstyrrelser, traume eller dysfunksjon i et pattedyr, og ytterligere foretrukket for anvendelse ved behandling, forebygging, eller lindring av ett eller flere symptomer på kreft, diabetes, autoimmune sykdom, nyresykdom, kardiovaskulær sykdom, bukspyttkjertel sykdom, tarmsykdom, leversykdom, nevrologisk sykdom, nevromuskulær forstyrrelser, nevromotorisk svikt, nevroskjeletal svekkelse, nevrologisk funksjonshemning, nevrosensorisk dysfunksjon, slag, ischemi, spiseforstyrrelser, α_1 -antitrypsin (AAT) mangel, Battens sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom, Parkinsons sykdom, skjelettsykdom, traume, eller lungesykdom i et pattedyr.

15. Anvendelsen av rAAV vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11 for fremstilling av et medikament for anvendelse ved diagnostisering, forebygging, behandling eller lindring av ett eller flere symptomer på en sykdom, skade, forstyrrelser, traume eller dysfunksjon i et pattedyr, og ytterligere foretrukket for anvendelse ved behandling, forebygging, eller lindring av ett eller flere symptomer på kreft, diabetes, autoimmun sykdom, nyresykdom, kardiovaskulær sykdom, bukspyttkjertel sykdom, tarmsykdom, leversykdom, nevrologisk sykdom, nevromuskulær forstyrrelser, nevromotorisk svikt, nevroskjeletal svekkelse, nevrologisk funksjonshemning, nevrosensorisk dysfunksjon, slag, ischemi, spiseforstyrrelser, α_1 -antitrypsin (AAT) mangel, Battens sykdom, Alzheimers sykdom, Huntingtons sykdom, Parkinsons sykdom, skjelettsykdom, traume, eller lungesykdom i et pattedyr.

16. rAAV-vektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11 for anvendelse i en fremgangsmåte for in vivo diagnostikk av ett eller flere symptomer på en sykdom, skade, forstyrrelse, traume eller dysfunksjon hos et pattedyr.