



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2822577 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

C07K 14/59 (2006.01)

A61K 38/37 (2006.01)

A61K 35/14 (2015.01)

C07K 14/755 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

C07K 14/79 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.05.13
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.02.06
(86)	European Application Nr.	13749382.1
(86)	European Filing Date	2013.02.15
(87)	The European Application's Publication Date	2015.01.14
(30)	Priority	2012.02.15, US, 201261599305 P 2012.07.11, US, 201261670553 P 2013.02.01, US, 201361759785 P
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Bioverativ Therapeutics Inc., 225 Second Avenue, Waltham MA 02451, USA
(72)	Inventor	KULMAN, John, 88 Creeley Road, Belmont, Massachusetts 02478, USA
(74)	Agent or Attorney	Orsnes Patent ApS, Forskerparken 10, 5230 ODENSE, Danmark

(54)	Title	RECOMBINANT FACTOR VIII PROTEINS
(56)	References Cited:	US-A1- 2004 203 107, WO-A1-2011/101284, US-A1- 2013 017 997, US-A1- 2012 178 691, US-A1- 2011 287 041, US-A1- 2011 124 565, US-A1- 2006 293 238, US-A1- 2010 120 664, US-A1- 2010 130 427, US-A1- 2011 046 060, US-A1- 2011 183 907 MIAO HONGZHI Z ET AL: "Bioengineering of coagulation factor VIII for improved secretion", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 103, no. 9, 1 May 2004 (2004-05- 01), pages 3412-3419, XP002452857, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2003-10-3591 PIPE S W: "The promise and challenges of bioengineered recombinant clotting factors", JOURNAL OF THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS, BLACKWELL PUBLISHING, OXFORD, GB, vol. 3, no. 8, 1 August 2005 (2005-08-01), pages 1692-1701, XP009139906, ISSN: 1538- 7933 SPENCER ET AL.: 'Lentiviral Vector Platform for Production of Bioengineered Recombinant Coagulation Factor VIII' MOL THER. vol. 19, no. 2, 2011, pages 302 - 309, XP055082242 FANG ET AL.: 'The protein structure and effect of factor VIII' THROMB RES. vol. 119, no. 1, 2007, pages 1 - 13, XP005764563 VENKATESWARLU D.: 'Structural investigation of zymogenic and activated forms of human

blood coagulation factor VIII: a computational molecular dynamics study.' BMC STRUCTURAL BIOLOGY vol. 10, 2010, pages 1 - 20, XP021067442
NGO ET AL.: 'Crystal structure of human factor VIII: implications for the formation of the factor IXa- factor VIII complex' STRUCTURE vol. 16, no. 4, 2008, pages 597 - 606, XP022588339
SHEN ET AL.: 'The tertiary structure and domain organization of coagulation factor VIII.' BLOOD vol. 111, no. 3, 2008, pages 1240 - 1247, XP002522093

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 faktor VIII (FVIII)-protein omfattende; første polypeptid omfattende formel I; (A1) - a1 - (A2) - a2 - [B]; og et andre polypeptid omfattende formel II: a3 - (A3) - (C1);
hvor det første peptidet og det andre polypeptidet fusjoneres eller eksisterer som et heterodimer;
hvor a) A1 er et A1-domene av FVIII; b) A2 er et A2-domene av FVIII; c) [B] er et B-domene av FVIII, et fragment derav, eller slettes d) A3 er et A3-domene av FVIII; e) C1 er et C1-domene av FVIII; og f) a1, a2, og a3 er syreavstandsregioner;
hvor A1-domenet omfatter en permissiv sløyfe-1 (A1-1)-region og en permissiv sløyfe-2 (A1-2)-region som en heterolog moietet kan settes inni uten å eliminere prokoagulant aktivitet til det rekombinante proteinet;
hvor A2-domenet omfatter en permissiv sløyfe-1 (A2-1)-region og en permissiv sløyfe-2 (A2-2)-region som en heterolog moietet kan settes inni uten å eliminere prokoagulant aktivitet til det rekombinante proteinet;
hvor A3-domenet omfatter en permissiv sløyfe-1 (A3-1)-region og en permissiv sløyfe-2 (A3-2)-region som en heterolog moietet kan settes inni uten å eliminere prokoagulant aktivitet til det rekombinante proteinet;
hvor minst én av regionene A1-1, A1-2, A2-1, A2-2, A3-1, A3-2 eller a3 omfatter en heterolog moietet; og
hvor det rekombinante FVIII-protein utviser prokoagulant aktivitet.
2. Det rekombinante FVIII-protein ifølge krav 1, hvor den heterologe moieteten ikke er en XTEN.
3. Det rekombinante FVIII-protein ifølge krav 1 eller 2 hvor
(a) A1-1-regionen korresponderer med en region i nativ moden human FVIII fra omtrent aminosyre 15 til omtrent aminosyre 45 eller fra omtrent aminosyre 18 til omtrent aminosyre 41 i SEQ ID NO:1,

- (b) A1-2-regionen korresponderer et med en region i nativ moden human FVIII fra omtrent aminosyre 201 til omtrent aminosyre 232 eller fra omtrent aminosyre 218 til omtrent aminosyre 229 i SEQ ID NO:1,
- (c) A2-1-regionen korresponderer et med en region i nativ moden human FVIII fra omtrent aminosyre 395 til omtrent aminosyre 421 eller fra omtrent aminosyre 397 til omtrent aminosyre 418 i SEQ ID NO:1,
- (d) A2-2-regionen korresponderer et med en region i nativ moden human FVIII fra omtrent aminosyre 577 til omtrent aminosyre 635 eller fra omtrent aminosyre 595 til omtrent aminosyre 607 i SEQ ID NO:1,
- (e) A3-1-regionen korresponderer et med en region i nativ moden human FVIII fra omtrent aminosyre 1705 til omtrent aminosyre 1732 eller fra omtrent aminosyre 1711 til omtrent aminosyre 1725 i SEQ ID NO:1, og
- (f) A3-2-regionen korresponderer et med en region i nativ moden human FVIII fra omtrent aminosyre 1884 til omtrent aminosyre 1917 eller fra omtrent aminosyre 1899 til omtrent aminosyre 1911 i SEQ ID NO:1.

4. Det rekombinante FVIII-proteinet ifølge krav 1, hvori den heterologe moieteten settes inn umiddelbart nedstrøms fra en aminosyre som korresponderer med en aminosyre i moden nativ human FVIII valgt fra gruppen bestående av: aminosyre 18 i SEQ ID NO:1, aminosyre 22 i SEQ ID NO:1, aminosyre 26 i SEQ ID NO:1, aminosyre 40 i SEQ ID NO:1, aminosyre 188 i SEQ ID NO:1, aminosyre 216 i SEQ ID NO:1, aminosyre 220 i SEQ ID NO:1, aminosyre 221 i SEQ ID NO:1, aminosyre 224 i SEQ ID NO:1, aminosyre 333 i SEQ ID NO:1, aminosyre 336 i SEQ ID NO:1, aminosyre 339 i SEQ ID NO:1, aminosyre 399 i SEQ ID NO:1, aminosyre 403 i SEQ ID NO:1, aminosyre 409 i SEQ ID NO:1, aminosyre 416 i SEQ ID NO:1, aminosyre 442 i SEQ ID NO:1, aminosyre 490 i SEQ ID NO:1, aminosyre 599 i SEQ ID NO:1, aminosyre 603 i SEQ ID NO:1, aminosyre 1711 i SEQ ID NO:1, aminosyre 1720 i SEQ ID NO:1, aminosyre 1725 i

SEQ ID NO:1, aminosyre 1796 i SEQ ID NO:1, aminosyre 1802 i SEQ ID NO:1, aminosyre 1900 i SEQ ID NO:1, aminosyre 1905 i SEQ ID NO:1, aminosyre 1910 i SEQ ID NO:1 og en hvilken som helst kombinasjon derav.

5. Det rekombinante FVIII-proteinet ifølge hvilket som helst krav 1 til 4, hvori en ekstra heterolog moietet settes inn i a3 umiddelbart nedstrøms fra en aminosyre som korresponderer med aminosyren 1656 i SEQ ID NO:1.
6. Det rekombinante FVIII-proteinet ifølge hvilket som helst krav 1 til 5, videre omfattende minst to, tre, fire, fem seks, sju, åtte eller ni heterologe moieteter i tillegg.
7. Det rekombinante FVIII-proteinet ifølge hvilket som helst krav 1 til 6, hvori minst én heterolog moietet omfatter et element som øker *in vivo* halveringstiden til protein hvori elementet velges fra:
 - (a) albumin;
 - (b) albuminbindende polypeptid;
 - (c) Fc;
 - (d) PAS;
 - (e) C-terminalpeptidet (CTP) til β -underenheten ved humant choriongonadotropin;
 - (f) polyetylglykol (PEG);
 - (g) hydroksyetyl stivelse (HES);
 - (h) albuminbindende små molekyler;
 - (i) clearance-reseptor, eller fragment derav, hvori clearance-reseptoren blokkerer binding av det rekombinante FVIII-proteinet til FVIII-clearance-reseptorer;
 - (j) lipoprotein reseptor-relatert protein 1 (LRP1) med lav tetthet eller et FVIII-bindende fragment derav; og
 - (k) en hvilken som helst kombinasjon av (a)-(h).

8. Det rekombinante FVIII-proteinet ifølge hvilket som helst krav 1 til 7, hvori den minst ene heterologe moieteten omfatter et peptid eller polypeptid som muliggjør visualisering eller lokalisering av det rekombinante FVIII-proteinet *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* eller en hvilken som helst kombinasjon derav; hvori peptidet eller polypeptidet som muliggjør visualisering eller lokalisering, velges fra:
- (a) biotin-akseptorpeptid,
 - (b) liponsyre-akseptorpeptid,
 - (c) fluorescensprotein,
 - (d) GFP,
 - (e) RFP,
 - (f) YFP,
 - (g) EGFP,
 - (h) EYFP,
 - (i) cystein-inneholdende peptid til ligasjon av en biarsenikal farge eller for å konjugere metastabil technetium,
 - (j) 4',5'-bis(1,3,2-ditioarsolan-2-yl)fluorescein (FIAsH),
 - (k) peptid for å konjugere europium-klatrater til fluorescensresonans-energioverføring (FRET)-baserte proximity-assayer, og
 - (l) en hvilken som helst kombinasjon derav.
9. Isolert nukleinsyre omfattende en sekvens som koder den rekombinante FVIII-proteinet ifølge hvilket som helst krav 1 til 8.
10. Uttrykksvektor omfattende nukleinsyren ifølge krav 9.
11. Uttrykksvektoren ifølge krav 10, hvori vektoren velges fra:
- (a) plasmid,

- (b) fagemid,
 - (c) virus,
 - (d) retrovirusvektor,
 - (e) adenovirusvektor,
 - (f) adeno-assosiert virusvektor,
 - (g) SV40-type virusvektor,
 - (h) polyomavirusvektor,
 - (i) Epstein-Barr-virusvektor,
 - (j) papillomvirusvektor,
 - (k) herpesvirusvektor,
 - (l) vaccinia-virusvektor,
 - (m) poliovirusvektor,
 - (n) Moloney-murinleukemi-virusvektor,
 - (o) Harvey-murinsarkom-virusvektor,
 - (p) murin brysttumor-virusvektor,
 - (q) Rous-sarkom-virusvektor, og
 - (r) et hvilket som helst derivat derav.
- 12.** Vertscelle omfattende den isolerte nukleinsyren ifølge krav 9 eller uttrykksvektoren ifølge krav 10 eller 11.
- 13.** Sammensetning omfattende det rekombinante FVIII-proteinet i hvilket som helst krav 1 til 8, den isolerte nukleinsyren ifølge krav 9, uttrykksvektoren ifølge krav 10 eller 11 eller vertscellen ifølge krav 12 og et farmasøytisk akseptabelt bæremiddel.
- 14.** Det rekombinante FVIII-proteinet ifølge hvilket om helst krav 1 til 8, den isolerte nukleinsyren ifølge krav 10, uttrykksvektoren ifølge krav 10 eller 11, vertscellen ifølge krav 12 eller sammensetningen ifølge krav 13 til anvendelse ved behandling, forebygging, håndtering, forbedring,

diagnostisering eller avbildning av en koagulerings sykdom eller -tilstand hos en pasient som trenger det, hvori koagulerings sykdommen eller -tilstanden er hemofili.

- 15.** Fremgangsmåten for å lage et rekombinant FVIII-protein omfattende å dyrke en vertscelle ifølge krav 12 under egnede forhold, hvori det rekombinante FVIII-proteinet uttrykkes.