



(12) **Translation of
European patent specification**

(11) **NO/EP 2865751 B1**

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 9/40 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2017.01.30
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2016.09.14
(86)	European Application Nr.	14195875.1
(86)	European Filing Date	2011.03.02
(87)	The European Application's Publication Date	2015.04.29
(30)	Priority	2010.03.02, US, 309487 P 2011.01.20, US, 201161434499 P 2011.01.20, US, 201161434503 P 2010.11.17, WO, PCT/IL10/000956
(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	Protalix Ltd., 2 Snunit Street Science Park, 2010000 Carmiel, IL-Israel
(72)	Inventor	SHULMAN, Avidor, House 84, 2017500 Rakefet, IL-Israel RUDERFER, Ilya, 17A/3 Morad HaGuy Street, 2181108 Carmiel, IL-Israel BEN-MOSHE, Tehila, P.O. Box 131Koranit, 20181 Doar-Na Misgav, IL-Israel SHEKHTER, Talia, 9 Gedera Street, 4972501 Petach-Tikva, IL-Israel AZULAY, Yaniv, 26 Shahaf Street, 2423222 Akko, IL-Israel SHAALTIEL, Yoseph, 44 HaAlon St., 3657600 Timrat, IL-Israel KIZHNER, Tali, 373 Duchifat Street, 2017000 Atzmon-Segev, IL-Israel
(74)	Agent or Attorney	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54) Title **Stabilized alpha-galactosidase and uses thereof**

(56) References
Cited: WO-A2-2006/108052
 WO-A2-2009/024977
 US-A- 5 580 757

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

5 **1.** Multimer proteinstruktur, omfattende minst to α -galaktosidasemonomerer kovalent bundet til hverandre via en bindingsenhet, hvori bindingsenheten ikke er til stede i nativ α -galaktosidase, der den multimere proteinstrukturen er til anvendelse i behandlingen av Fabrys sykdom.

10 **2.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge krav 1, hvori den multimere proteinstrukturen utviser en egenskap som er valgt fra gruppen bestående av:

(a) en α -galaktosidaseaktivitet, ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for humanplasmabetingelser i én time, som er minst 10 % høyere enn en aktivitet til nativ α -galaktosidase ved utsetting av den native α -galaktosidasen for humanplasmabetingelsene i en time;

15 (b) en α -galaktosidaseaktivitet som, ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for humanplasmabetingelser i én time, avtar med en prosentandel som er minst 10 % lavere enn prosentandelen som en aktivitet til den native α -galaktosidasen avtar med ved utsetting av den native α -galaktosidasen for humanplasmabetingelsene i en time;

20 (c) en α -galaktosidaseaktivitet som forblir i det vesentlige uendret ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for humanplasmabetingelser i én time;

(d) en α -galaktosidaseaktivitet, ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for lysosomale betingelser i én uke, som er minst 10 % høyere enn en aktivitet til nativ α -galaktosidase ved utsetting av den native α -galaktosidasen for de lysosomale betingelsene i én uke;

25 (e) en α -galaktosidaseaktivitet som, ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for lysosomale betingelser i ett døgn, avtar med en prosentandel som er minst 10 % lavere enn prosentandelen som en aktivitet til den native α -galaktosidasen avtar med ved utsetting av den native α -galaktosidasen for de lysosomale betingelsene i ett døgn;

30 (f) en α -galaktosidaseaktivitet som forblir i det vesentlige uendret ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for lysosomale betingelser i ett døgn;

(g) en α -galaktosidaseaktivitet, umiddelbart ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for lysosomale betingelser, som er minst 10 % høyere enn en aktivitet til nativ α -galaktosidase umiddelbart ved utsetting av den native α -galaktosidasen for de lysosomale betingelsene;

35

(h) en α -galaktosidaseaktivitet, umiddelbart ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for en vandig løsning med en pH på 7 og en temperatur på 37 °C, som er minst 10 % høyere enn en aktivitet til nativ α -galaktosidase umiddelbart ved utsetting av den native α -galaktosidasen for den vandige
5 løsningen med en pH på 7 og en temperatur på 37 °C; og
(i) en sirkulerende halveringstid i et fysiologisk system som er høyere enn en sirkulerende halveringstid til den native α -galaktosidasen.

10 **3.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge krav 2, hvori den multimere proteinstrukturens α -galaktosidaseaktivitet som forblir i det vesentlige uendret ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for lysosomale betingelser i ett døgn, videre forblir i det vesentlige uendret ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for lysosomale betingelser i én uke.

15 **4.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori den multimere proteinstrukturen omfatter to α -galaktosidasemonomerer, der proteinstrukturen er en dimer proteinstruktur.

20 **5.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori α -galaktosidasen er en α -galaktosidase generert ved rekombinant teknologi.

25 **6.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori α -galaktosidasen er en human α -galaktosidase valgt fra gruppen bestående av agalsidase-alpha og agalsidase-beta.

30 **7.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori α -galaktosidasen har en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 og SEQ ID NO:3.

8. Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvori bindingsenheten er minst 20 atomer lang.

35 **9.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvori bindingsenheten omfatter en poly(alkylenglykol).

10. Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvori bindingsenheten har den generelle formelen:



5 hvori hver av X_1 og X_2 er en funksjonell gruppe som danner en kovalent binding med minst én α -galaktosidasemonomer;

Y er O, S eller NR_5 ;

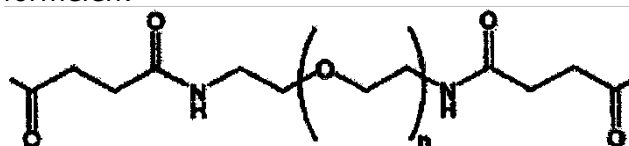
n er et heltall fra 1 til 200; og

10 hver av R_1 , R_2 , R_3 , R_4 og R_5 er uavhengig valgt fra gruppen bestående av hydrogen, alkyl, sykloalkyl, alkenyl, alkynyl, alkoksy, hydroksy, okso, tiol og tioalkoksy.

15 **11.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge krav 10, hvori n er minst 25.

20 **12.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge krav 10, hvori den multimere proteinstrukturen omfatter to α -galaktosidasemonomerer, der proteinstrukturen er en dimer proteinstruktur, hvori α -galaktosidasen har en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 og SEQ ID NO:3, hver av de funksjonelle gruppene danner en amidbinding med en α -galaktosidasemonomer og n er et heltall fra 40 til 70.

25 **13.** Den multimere proteinstrukturen til anvendelse ifølge krav 7, hvori den multimere proteinstrukturen omfatter to α -galaktosidasemonomerer, der proteinstrukturen er en dimer proteinstruktur, hvori bindingsenheten har formelen:



30 hvori en molekylvekt til polyetylen glykol i bindingsenheten er på 2 kDa og hver av bindingsenhetens terminale grupper danner en amidbinding med en α -galaktosidasemonomer.

14. Farmasøytisk sammensetning til anvendelse i behandlingen av Fabrys sykdom ved parenteral administrering, der sammensetningen omfatter den

multimere proteinstrukturen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 13 og en farmasøytisk akseptabel bærer.

5 **15.** Sammensetningen til anvendelse ifølge krav 14, hvori den parenterale administreringen er intravenøs infusjon.

16. Sammensetningen til anvendelse ifølge krav 14 eller 15, hvori en konsentrasjon av den multimeren proteinstrukturen er 2 mg/ml.

10 **17.** Farmasøytisk sammensetning til anvendelse i behandlingen av Fabrys sykdom ved parenteral administrering, der sammensetningen omfatter:

(i) en multimer proteinstruktur, omfattende minst to α -galaktosidasemonomerer kovalent bundet til hverandre via en bindingsenhet; og

(ii) en farmasøytisk akseptabel bærer,

15 hvori den multimeren proteinstrukturen utviser en egenskap som er valgt fra gruppen bestående av:

(a) en α -galaktosidaseaktivitet, ved utsetting av den multimeren proteinstrukturen for humanplasmabetingelser i én time, som er minst 10 % høyere enn en aktivitet til nativ α -galaktosidase ved utsetting av den native α -galaktosidasen for humanplasmabetingelsene i én time;

20 (b) en α -galaktosidaseaktivitet som, ved utsetting av den multimeren proteinstrukturen for humanplasmabetingelser i én time, avtar med en prosentandel som er minst 10 % lavere enn prosentandelen som en aktivitet til den native α -galaktosidasen avtar med ved utsetting av den native α -galaktosidasen for humanplasmabetingelsene i én time;

(c) en α -galaktosidaseaktivitet som forblir i det vesentlige uendret ved utsetting av den multimeren proteinstrukturen for humanplasmabetingelser i én time;

25 (d) en α -galaktosidaseaktivitet, ved utsetting av den multimeren proteinstrukturen for lysosomale betingelser i én uke, som er minst 10 % høyere enn en aktivitet til nativ α -galaktosidase ved utsetting av den native α -galaktosidasen for de lysosomale betingelsene i én uke;

30 (e) en α -galaktosidaseaktivitet som, ved utsetting av den multimeren proteinstrukturen for lysosomale betingelser i ett døgn, avtar med en prosentandel som er minst 10 % lavere enn prosentandelen som en aktivitet til den native α -galaktosidasen avtar med ved utsetting av den native α -galaktosidasen for de lysosomale betingelsene i ett døgn;

35

(f) en α -galaktosidaseaktivitet som forblir i det vesentlige uendret ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for lysosomale betingelser i ett døgn;

5 (g) en α -galaktosidaseaktivitet, umiddelbart ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for lysosomale betingelser, som er minst 10 % høyere enn en aktivitet til nativ α -galaktosidase umiddelbart ved utsetting av den native α -galaktosidasen for de lysosomale betingelsene;

10 (h) en α -galaktosidaseaktivitet, umiddelbart ved utsetting av den multimere proteinstrukturen for en vandig løsning med en pH på 7 og en temperatur på 37 °C, som er minst 10 % høyere enn en aktivitet til nativ α -galaktosidase umiddelbart ved utsetting av den native α -galaktosidasen for den vandige løsningen med en pH på 7 og en temperatur på 37 °C; og

(i) en sirkulerende halveringstid i et fysiologisk system som er minst 20 % høyere enn den sirkulerende halveringstiden til den native α -galaktosidasen.