



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 3117005 B1

NORWAY

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

**Norwegian Industrial Property Office**

---

|      |                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------|----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (45) | Translation Published                                                      | 2024.10.07                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (80) | Date of The European<br>Patent Office Publication of<br>the Granted Patent | 2024.07.03                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (86) | European Application Nr.                                                   | 15715476.6                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (86) | European Filing Date                                                       | 2015.03.10                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (87) | The European Application's<br>Publication Date                             | 2017.01.18                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (30) | Priority                                                                   | 2014.03.10, EP, 14158610                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| (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                                                                 | uniQure IP B.V., Paasheuvelweg 25, 1105 BP Amsterdam, Nederland                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| (72) | Inventor                                                                   | LUBELSKI, Jacek, c/o uniQure IP B.V. Paasheuvelweg 25, NL-1105 BP<br>Amsterdam, Nederland<br>BOSMA, Sebastiaan Menno, c/o uniQure IP B.V. Paasheuvelweg 25, NL-1105 BP<br>Amsterdam, Nederland<br>PETRY, Harald Peter Albert, c/o uniQure IP B.V. Paasheuvelweg 25, NL-1105 BP<br>Amsterdam, Nederland<br>HERMENS, Wilhelmus Theodorus Johannes Maria Christiaan, c/o uniQure BP B.V.<br>Paasheuvelweg 25, NL-1105 BP Amsterdam, Nederland |
| (74) | Agent or Attorney                                                          | ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

---

(54) Title                    **FURTHER IMPROVED AAV VECTORS PRODUCED IN INSECT CELLS**

(56) References  
Cited:                    WO-A2-2007/046703  
                              WO-A2-03/042361  
                              URABE M ET AL: "Insect cells as a factory to produce adeno-associated virus type 2 vectors",  
                              HUMAN GENE THERAPY, MARY ANN LIEBERT, NEW YORK ,NY, US, vol. 13, no. 16, 1  
                              November 2002 (2002-11-01), pages 1935 - 1943, XP002394454, ISSN: 1043-0342, DOI:  
                              10.1089/10430340260355347  
                              URABE MASASHI ET AL: "Scalable generation of high-titer recombinant adeno-associated virus  
                              type 5 in insect cells", JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR  
                              MICROBIOLOGY, US, vol. 80, no. 4, 1 February 2006 (2006-02-01), pages 1874 - 1885,  
                              XP002429140, ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.80.4.1874-1885.2006

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.** Et nukleinsyremolekyl som har en nukleotidsekvens som omfatter en modifisert åpen leseramme som koder for adeno-assosiert virus (AAV) kapsidproteiner, hvor leserammen i 5' til 3' rekkefølge omfatter:
- 5 (i) et første kodon, som er et suboptimalt translasjonsinitieringskodon valgt fra gruppen som består av CTG, ACG, TTG og GTG;
- (ii) et andre kodon etter det første kodonet som koder for en aminosyrerest valgt fra gruppen som består av alanin, glycin, valin, asparaginsyre og glutaminsyre.
- 10 (iii) en sekvens som koder for adeno- assosiert virus (AAV) serotype 5 kapsidproteiner, hvorved sekvensen mangler bare ATG VP1 translasjonsinitieringskodonet, og hvorved sekvensen omfatter resten av en åpen leseramme som koder for AAV5 kapsidproteiner, hvorved resten starter ved posisjonen som svare til den andre aminosyreposisjonen i en villtype åpen leseramme som koder for kapsidproteinene.
- 15
- 2.** Et nukleinsyremolekyl i henhold til krav 1, hvor AAV-kapsidproteinene omfatter aminosyresekvensen med: SEKV ID NR: 22.
- 20
- 3.** Et nukleinsyremolekyl i henhold til krav 1 eller krav 2, hvor det andre kodonet koder for alanin.
- 4.** Et nukleinsyremolekyl i henhold til krav 1 eller krav 2, hvor det andre kodonet er valgt fra gruppen som består av GCT, GCC, GCA, GCG og GGU, fortrinnsvis hvor kodonet er GCT.
- 25
- 5.** En nukleinsyrekonstruksjon som omfatter et nukleinsyremolekyl i henhold til et hvilket som helst av krav 1 - 4, hvor nukleotidsekvensen av leserammen som koder for de adeno-assosierte virus (AAV) kapsidproteinene er operativt koblet til ekspresjonskontrollsekvenser for ekspresjon i en insektscelle.
- 30

**6.** En nukleinsyrekonstruksjon i henhold til krav 5, hvor nukleotidsekvensen til leserammen er operativt koblet til en promotor valgt fra gruppen som består av: polyhedron promotor, p10 promotor, 4xHsp27 EcRE+minimal Hsp70 promotor, deltaE1 promotor, E1 promotor.

5

**7.** En nukleinsyrekonstruksjon i henhold til krav 5 eller krav 6, hvor konstruksjonen er en insekt-kompatibel vektor, fortrinnsvis en bakulovirus vektor.

**8.** En nukleinsyrekonstruksjon i henhold til et hvilket som helst av krav 5-7, hvor nukleinsyremolekylet omfatter en åpen leseramme valgt fra gruppen som består av: SEKV ID NR: 51, 69, 42, 47, 48 og 50, fortrinnsvis SEKV ID NR:51.

10

**9.** En insektscelle som omfatter en nukleinsyrekonstruksjon i henhold til et hvilket som helst av krav 5-8.

15

**10.** En insektscelle i henhold til krav 9, hvor insektscellen videre omfatter:

- (a) en andre nukleotidsekvens som omfatter minst én AAV invertert terminal repeat (ITR) nukleotidsekvens;
- (b) en tredje nukleotidsekvens som omfatter en Rep78- eller en Rep68-kodende sekvens operativt koblet til ekspresjonskontrollsekvenser for ekspresjon i en insektscelle;
- (c) eventuelt, en fjerde nukleotidsekvens som omfatter en Rep52- eller en Rep40-kodende sekvens operativt koblet til ekspresjonskontrollsekvenser for ekspresjon i en insektscelle.

20

25

**11.** En insektscelle i henhold til krav 10, hvor insektscellen omfatter:

- (a) en første nukleinsyrekonstruksjon i henhold til et hvilket som helst av krav 5-8, hvorved den første nukleinsyrekonstruksjonen videre omfatter den tredje og fjerde nukleotidsekvensen som definert i (b) og (c) i krav 10; og,
- (b) en andre nukleinsyrekonstruksjon som omfatter den andre nukleotidsekvensen som definert i (a) i krav 10, hvor den andre

30

nukleinsyrekonstruksjonen fortrinnsvis er en insektscelle-kompatibel vektor, mer foretrukket en bakulovirus vektor.

5       **12.** En insektscelle i henhold til et hvilket som helst av krav 10 - 11, hvor den andre nukleotidsekvensen videre omfatter minst én nukleotidsekvens som koder for et genprodukt av interesse (for ekspresjon i en pattedyrscelle) og hvorved den minst ene nukleotidsekvensen som koder for et genprodukt av interesse blir inkorporert inn i genomet til en AAV-serotype-5 produsert i insektscellen, fortrinnsvis hvor den andre nukleotidsekvensen omfatter to AAV ITR-nukleotidsekvenser og hvor den minst ene nukleotidsekvensen som koder for et  
10       genprodukt av interesse er lokalisert mellom de to AAV ITR-nukleotidsekvensene.

15       **13.** Insektscellen i henhold til krav 10, hvor den første nukleotidsekvensen, andre nukleotidsekvensen, tredje nukleotidsekvensen og eventuelt fjerde nukleotidsekvensen er stabilt integrert i genomet til insektscellen.

20       **14.** Et AAV5-virion, som omfatter i dets genom minst én nukleotidsekvens som koder for et genprodukt av interesse, hvorved den minst ene nukleotidsekvensen ikke er en nativ AAV-nukleotidsekvens, og hvor AAV-VP1-kapsidproteinet omfatter, fra N-terminal til C-terminal

- (i) en første aminosyrerest, som er kodet av et translasjons-initieringskodon, fortrinnsvis valgt fra gruppen som består av CTG, ACG, TTG og GTG;
- (ii) en aminosyresekvens av AAV-VP1-kapsidproteinet, hvorved sekvensen  
25       mangler bare aminosyreresten som er kodet av VP1-translasjons-initieringskodonet;

hvor en andre aminosyrerest blir satt inn etter den første aminosyreresten som koder for en aminosyrerest valgt fra gruppen som består av alanin, glycin, valin, asparaginsyre og glutaminsyre, og, eventuelt, én eller flere ytterligere aminosyre-  
30       rester som etterfølger den andre aminosyreresten.

**15.** En fremgangsmåte for å produsere et AAV5 i en insektscelle, som omfatter trinnene med: (a) å dyrke en insektscelle som definert i et hvilket som helst av

EP 3 117 005

4

krav 9-13 under betingelser slik at AAV blir produsert; og eventuelt (b) utvinning av AAV-et.

- 16.** Et AAV5-virion i henhold til krav 14, hvor genproduktet av interesse koder  
5 for et faktor-IX- eller et faktor-VIII-protein.