



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3274469 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12Q 1/6876 (2018.01)
C12Q 1/70 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.09.21
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.04.29
(86)	European Application Nr.	16734060.3
(86)	European Filing Date	2016.03.25
(87)	The European Application's Publication Date	2018.01.31
(30)	Priority	2015.03.27, US, 201562139321 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	Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA
(72)	Inventor	MONPOEHO, Serge, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc.777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA MINK, Sheldon, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc.777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA VESCIO, Paul, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc.777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54) Title **METHODS FOR DETECTING A BIOLOGICAL CONTAMINANT**

(56) References
Cited:

EP-A1- 2 098 599
DE-B3-102006 034 844
WO-A2-2014/006432
WO-A2-2012/052158
WO-A2-2004/044247
WO-A2-03/002753
WO-A2-01/46463
DECARO N ET AL: "A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs", VETERINARY MICROBIOLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 105, no. 1, 5 January 2005 (2005-01-05), pages 19-28, XP027620340, ISSN: 0378-1135 [retrieved on 2005-01-05]

D. G. BESSELSSEN: "Identification of novel murine parvovirus strains by epidemiological analysis of naturally infected mice", JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY., vol. 87, no. 6, 1 June 2006 (2006-06-01), pages 1543-1556, XP055291796, GB ISSN: 0022-1317, DOI:

10.1099/vir.0.81547-0

DATABASE EMBL [Online] 30 May 2001 (2001-05-30), "Sequence 3 from Patent EP1077260.", XP002760328, retrieved from EBI accession no. EM_PAT:AX137738 Database accession no. AX137738 & EP 1 077 260 A1 (DEUTSCHES KREBSFORSCH [DE]) 21 February 2001 (2001-02-21)

AMANDA J REDIG ET AL: "Detection of Rodent Parvoviruses by Use of Fluorogenic Nuclease Polymerase Chain Reaction Assays", COMPARATIVE MEDICINE, vol. 51, no. 4, 1 August 2001 (2001-08-01), pages 326-331, XP055291798,

MUELLER J ET AL: "DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A REAL-TIME PCR ASSAY FOR ROUTINE TESTING OF BLOOD DONATIONS FOR PARVOVIRUS B19 DNA", INFUSION THERAPY AND TRANSFUSION MEDICINE - INFUSIONSTHERAPIE UND TRANSFUSIONSMEDIZIN, KARGER, BASEL, CH, vol. 29, no. 5, 1 September 2002 (2002-09-01), pages 254-258, XP008032754, ISSN: 1424-5485

DROSTEN C ET AL: "Evaluation of a new PCR assay with competitive internal control sequence for blood donor screening", TRANSFUSION, AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS, BETHESDA, MD, US, vol. 40, no. 6, 1 June 2000 (2000-06-01), pages 718-724, XP002227201, ISSN: 0041-1132, DOI: 10.1046/J.1537-2995.2000.40060718.X

LAETITIA NINOVE ET AL: "RNA and DNA Bacteriophages as Molecular Diagnosis Controls in Clinical Virology: A Comprehensive Study of More than 45,000 Routine PCR Tests", PLOS ONE, vol. 6, no. 2, 9 February 2011 (2011-02-09), page e16142, XP055291555, DOI: 10.1371/journal.pone.0016142

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/>

3274469

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for påvisning av en biologisk kontaminant i en testprøve, omfattende trinnene av:

- 5 a) å kombinere bestanddeler for å fremstille en reaksjonsblanding, hvor ingrediensene omfatter (i) en nukleinsyreprøve som stammer fra en testprøve, (ii) oligonukleotider, og (iii) en DNA-polymerase, hvor oligonukleotidene omfatter:
- en forover-oligonukleotid-primer, som er spesifikk for amplifikasjon av den biologiske kontaminants målampifikasjonspolynukleotid (TAP)-sekvens;
 - 10 - en revers-oligonukleotid-primer, som er spesifikk for amplifikasjon av den biologiske kontaminants TAP-sekvens;
 - en oligonukleotid-påvisningssonde, som er spesifikk for den biologiske kontaminants TAP-sekvens;
 - en unik påvisningssonde (UDP) for en plasmid-amplifikasjonskontroll-nukleotid (PACP)-sekvens av et positivt amplifikasjonskontroll (PAC)-plasmid, idet plasmidet inneholder TAP-sekvensen og en PACP-sekvens; og
 - 15 - et sett av primere og en sonde for å påvise nukleinsyre-ekstraksjonskontroll-polynukleotider (NACP);
- b) å utsette reaksjonsblandingen for en polymerase-kjedereaksjon (PCR);
- 20 c) under PCR-en å overvåke produksjonen av (i) TAP, (ii) nukleinsyre-ekstraksjonskontroll-polynukleotider (NACP) og PACP; og
- d) å sammenligne produksjonen av TAP med produksjonen av NACP og PACP, hvor tilstedeværelsen av TAP, tilstedeværelsen av NACP og fraværet av PACP som produseres under PCR-en, betyr at testprøven inneholder en
- 25 biologisk kontaminant og ikke inneholder et positivt amplifikasjonskontroll-plasmid,
- hvor en separat parallell positivkontroll-PCR-reaksjon gjennomføres under identiske parametere og med identiske komponenter, med det unntak at PAC-plasmidet er til stede i stedet for en fra en testprøve stammende nukleinsyreprøve,
- 30 hvor tilstedeværelsen av TAP, NACP and PACP som produseres under positivkontroll-PCR-reaksjonen betyr at PCR-en fungerer korrekt, og fraværet av en

3274469

hvilken som eller flere hvilke som helst av TAP, NACP eller PACP betyr at positivkontrollen mislyktes.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor testprøven er spiked med M13K07-fag.

5

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor nevnte UDP videre omfatter en fluorofores og en quencher.

4. Fremgangsmåte ifølge krav 3, hvor nevnte fluorofores har en eksitasjonsbølglengde hvor som helst mellom 495 nm og 680 nm, begge inkludert, og en emisjonsbølglengde hvor som helst mellom 515 nm og 710 nm, begge inkludert.

5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor nevnte NACP er et M13-bakteriofag-polynukleotid.

6. Fremgangsmåte ifølge krav 4, hvor den NACP-spesifikke oligonukleotid-påvisningssonden omfatter et cyanin-fargestoff som har et absorpsjonsmaksimum på cirka 650 nm og et emisjonsmaksimum på cirka 670 nm.

20

7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-5, som omfatter å gjennomføre en PCR-reaksjon med en identisk negativkontroll, hvor negativkontrollen ikke omfatter testprøven, og hvor

- det, dersom det i negativkontrollreaksjonen produseres TAP-er og PACP-er, kan konkluderes at PCR-reagensene er kontaminert med PAC-plasmidet,
- det, dersom det produseres TAP-er, men ikke PACP-er, kan konkluderes at PCR-reagensene er kontaminert med et parvovirus,
- dersom så vel TAP- som PACP-produksjonen er negativ i negativkontrollreaksjonen, TAP- og PACP-produksjonen er positiv i positivkontrollreaksjonen, og TAP- og valgfritt NACP-produksjonen er positiv og PACP-produksjonen er negativ i testprøvereaksjonen, da er testprøven kontaminert.

25

30