



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3377618 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 7/02 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.03.29
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.11.18
(86)	European Application Nr.	16819211.0
(86)	European Filing Date	2016.11.18
(87)	The European Application's Publication Date	2018.09.26
(30)	Priority	2015.11.19, US, 201562257444 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	Novartis AG, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Sveits The Trustees of The University of Pennsylvania, 3160 Chestnut Street, Suite 200, Philadelphia, PA 19104, USA
(72)	Inventor	DEB, Amitabha, c/o Novartis Institutes for Biomedical Research Inc.250 Massachusetts Avenue, Cambridge, MA 02139, USA NEBELITSKY, Eugene, 12 Madelyn Road, Norwood, MA 02062, USA SLEPUSHKIN, Vladimir, 19 B Street, Everett, MA 02149, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	BUFFERS FOR STABILIZATION OF LENTIVIRAL PREPARATIONS
(56)	References Cited:	US-A1- 2015 056 696 WO-A1-2015/097650 ADAM P CRIBBS ET AL: "Simplified production and concentration of lentiviral vectors to achieve high transduction in primary human T cells", BMC BIOTECHNOLOGY, BIOMED CENTRAL LTD. LONDON, GB, vol. 13, no. 1, 12 November 2013 (2013-11-12), page 98, XP021167925, ISSN: 1472-6750, DOI: 10.1186/1472-6750-13-98 GUSTAVO TISCORNIA ET AL: "PRODUCTION AND PURIFICATION OF LENTIVIRAL VECTORS", NATURE PROTOCOLS, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 1, no. 1, 1 June 2006 (2006-06-01), pages 241-245, XP008164022, ISSN: 1750-2799, DOI: 10.1038/NPROT.2006.37 [retrieved on 2006-06-27] SCHWEIZER M ET AL: "Large-scale production means for the manufacturing of lentiviral vectors", CURRENT GENE THERAPY, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS LTD, NL, vol. 10, no. 6, 1 December 2010 (2010-12-01), pages 474-486, XP009154493, ISSN: 1566-5232, DOI: 10.2174/156652310793797748 MARLENE CARMO ET AL: "Stabilization of gammaretroviral and lentiviral vectors: from

production to gene transfer", JOURNAL OF GENE MEDICINE, vol. 11, no. 8, 1 August 2009 (2009-08-01) , pages 670-678, XP055344194, US ISSN: 1099 -498X, DOI: 10.1002/jgm.1353 cited in the application

Patrick Salmon ET AL: "Production and Titration of Lentiviral Vectors" In: "Current Protocols in Human Genetics", 1 July 2007 (2007 -07-01), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, XP055343640, ISSN: 1934-8266 ISBN: 978-0-471-14290-4 DOI: 10.1002/0471142905.hg1210s54, the whole document

ROBERT H KUTNER ET AL: "Production, concentration and titration of pseudotyped HIV1-based lentiviral vectors", NATURE PROTOCOLS, vol. 4, no. 4, 1 March 2009 (200903-01), pages 495-505, XP055344236, GB ISSN: 1754-2189, DOI: 10.1038/nprot.2009.22

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/>

EP3377618

1

Patentkrav

1. Vandig sammensetning omfattende en lentiviral vektor, en 1,4-piperazindietansulfonsyre (PIPES) -buffer og et salt.

5

2. Den vandige sammensetningen ifølge krav 1, hvori

(a) PIPES-bufferen er til stede i en konsentrasjon fra ca. 10 mM til ca. 50 mM, *f.eks.* ca. 20 mM;

10

(b) pH-en til den vandige sammensetningen er fra ca. 6,0 til ca. 7,0, *f.eks.* ca. 6,5;

(c) saltet er valgt fra gruppen bestående av natriumklorid, magnesiumklorid og kalsiumklorid, *for eksempel* er saltet natriumklorid;

(d) konsentrasjonen av saltet i den vandige sammensetningen er fra ca. 25 mM til ca. 150 mM, *f.eks.* ca. 50 mM eller ca. 75 mM; og/eller

15

(e) den vandige sammensetningen omfatter 20 mM PIPES og 75 mM natriumklorid, og hvori den vandige sammensetningen har en pH på ca. 6,5.

3. Den vandige sammensetningen ifølge krav 1 eller 2, hvori

20

(a) den vandige sammensetningen ytterligere omfatter et karbohydrat, eventuelt hvori karbohydratet er

(i) et ikke-reduserende karbohydrat, *f.eks.* et ikke-reduserende karbohydrat valgt fra gruppen bestående av sukrose og trehalose; og/eller

(ii) til stede i en konsentrasjon fra ca. 1 til ca. 10, ca. 2 til ca. 5 eller ca. 2,5 vekt-% per volum av den vandige sammensetningen;

25

(b) den vandige sammensetningen omfatter 20 mM PIPES, 75 mM natriumklorid og 2,5 vekt-% sukrose per volum av den vandige sammensetningen, og hvori den vandige sammensetningen har en pH på ca. 6,5; og/eller

(c) osmolaliteten til den vandige sammensetningen er fra ca. 270 mOsm/kg til ca. 330 mOsm/kg, ca. 275 mOsm/kg til ca. 300 mOsm/kg eller ca. 285 mOsm/kg.

30

4. Den vandige sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvori den lentivirale vektoren

EP3377618

2

(a) er til stede i en konsentrasjon fra ca. 2×10^8 transduserende enheter per milliliter (TU/ml) til ca. 1×10^9 TU/ml, *f.eks.* fra ca. 3×10^8 TU/ml til ca. 5×10^8 TU/ml;

(b) er et rekombinant humant immunsviktvirus; og/eller

5 (c) omfatter vesikulært stomatittvirus G (VSV-G) -protein, -eventuelt hvori VSV-G-proteinet er til stede på overflaten til den lentivirale vektoren.

10 **5.** Den vandige sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvori den lentivirale vektoren omfatter et transgen, eventuelt hvori transgenet koder for et protein.

15 **6.** Den vandige sammensetningen ifølge krav 5, hvori proteinet omfatter en kimær antigenreseptor (CAR), eventuelt hvori CAR-en omfatter, i en N-terminal til C-terminal retning, et antigenbindende domene, et transmembrandomene og ett eller flere signaleringsdomener.

7. Den vandige sammensetningen ifølge krav 6, hvori signaleringsdomenene omfatter ett eller flere primære signaleringsdomener og/eller ett eller flere kostimulerende signaleringsdomener, eventuelt hvori

20 (a) ett av det ene eller de flere primære signaleringsdomenene omfatter et CD3-zeta-stimulerende domene; og/eller

(b) ett eller flere av de kostimulerende signaleringsdomenene omfatter et intracellulært domene valgt fra et kostimulerende protein valgt fra gruppen bestående av CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFRR, HVEM, ICAM-1, lymfocytffunksjonsassosiert antigen-1 (LFA-1), CD2, CDS, 25 CD7, CD287, LIGHT, NKG2C, NKG2D, SLAMF7, NKp80, NKp30, NKp44, NKp46, CD160, B7-H3 og en ligand som spesifikt binder med CD83, *f.eks.* omfatter det ene eller de flere av de kostimulerende signaleringsdomenene det 4-1BB (CD137) -kostimulerende domenet og/eller det CD28-kostimulerende domenet.

30

8. Den vandige sammensetningen ifølge krav 6 eller 7, hvori

(a) det antigenbindende domenet er en scFv;

(b) det antigenbindende domenet binder til et antigen valgt fra gruppen bestående av CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1; lektinlignende molekyl-1 av C-

EP3377618

3

typen, CD33; epidermal vekstfaktorreseptor variant III (EGFRvIII); gangliosid G2 (GD2); gangliosid GD3; TNF-reseptor-familie medlem B-cellemodning (BCMA); Tn-antigen ((Tn Ag) eller (GalNAc-Ser/Thr)); prostataspesifikt membranantigen (PSMA); reseptortyrosinkinase-lignende orfan reseptor 1 (ROR1); Fms-lignende tyrosinkinase 3 (FLT3); tumorassosiert glykoprotein 72 (TAG72); CD38; CD44v6; karsinoembryonisk antigen (CEA); epitelcelleadhesjonsmolekyl (EPCAM); B7H3 (CD276); KIT (CD117); interleukin-13-reseptor underenhet alfa-2; mesotelin; interleukin 11-reseptor alfa (IL-11Ra); prostatastamcelleantigen (PSCA); proteaseserin 21; vaskulær endotelial vekstfaktorreseptor 2 (VEGFR2); Lewis(Y)-antigen; CD24; blodplateavledet vekstfaktorreseptor beta (PDGFR-beta); stadiespesifikt embryonisk antigen-4 (SSEA-4); CD20; folatreseptor alfa; reseptortyrosinproteinkinase ERBB2 (Her2/neu); mucin 1, celleoverflateassosiert (MUC1); epidermal vekstfaktorreseptor (EGFR); nervecelleadhesjonsmolekyl (NCAM); prostase; prostatisk syrefosfatase (PAP); forlengingsfaktor 2 mutert (ELF2M); efrin B2; fibroblastaktiveringsprotein alfa (FAP); insulinlignende vekstfaktor 1-reseptor (IGF-I-reseptor), karbonanhydrase IX (CAIX); proteasom (prosom, makropain) underenhet, betatype, 9 (MP2); glykoprotein 100 (gp100); onkogen fusjonsprotein bestående av breakpoint cluster region (BCR) og Abelson murint leukemivirus-onkogenhomolog 1 (Abl) (bcr-abl); tyrosinase; efrin type-A-reseptor 2 (EphA2); fucosyl GM1; sialyl-Lewis-adhesjonsmolekyl (sLe); gangliosid GM3; transglutaminase 5 (TGS5); melanomassosiert antigen med høy molekylvekt (HMWMAA); o-acetyl-GD2 gangliosid (OAcGD2); folatreseptor beta; tumorendotelmarkør 1 (TEM1/CD248); tumorendotelmarkør-7-relatert (TEM7R); claudin 6 (CLDN6); thyroidstimulerende hormon-reseptor (TSHR); G-proteinkoblet reseptor klasse C gruppe 5, medlem D (GPRC5D); X-kromosom-åpen leseramme 61 (CXORF61); CD97; CD179a; anaplastisk lymfom-kinase (ALK); polysialinsyre; placentaspesifikk 1 (PLAC1); heksasakkaridel av globoH-glykoceramid (GloboH); brystkjerteldifferensieringsantigen (NY-BR-1); uroplakin 2 (UPK2); hepatitt A-virus-cellerseptor 1 (HAVCR1); adrenoseptor beta 3 (ADRB3); pannexin 3 (PANX3); G-proteinkoblet reseptor 20 (GPR20); lymfocyttantigen 6-kompleks, locus K 9 (LY6K); olfaktorisk reseptor 51E2 (OR51E2); TCR-gamma-alternativt leserammeprotein (TARP); Wilms tumorprotein (WT1); cancer/testis-antigen 1 (NY-ESO-1); cancer/testis-antigen 2 (LAGE-1a); melanomssosiert antigen 1 (MAGE-A1); ETS-translokasjonsvariant

EP3377618

4

gen 6, lokalisert på kromosom 12p (ETV6-AML); spermprotein 17 (SPA17); X-
 antigenfamilie, medlem 1A (XAGE1); angiopoietin-bindende celleoverflatereseptor
 2 (Tie 2); melanom-cancer-testis-antigen-1 (MAD-CT-1); melanom-cancer-testis-
 antigen-2 (MAD-CT-2); Fos-relatert antigen 1; tumorprotein p53 (p53); p53-
 5 mutant; prostein; surviving; telomerase; prostatakarsinomtumorantigen-1,
 melanomantigen gjenkjent av T-celler 1; rottesarkom (Ras) -mutant; human
 telomerase-revers-transkriptase (hTERT); sarkomtranslokasjons-breakpoints;
 melanomapoptoseinhibitor (ML-IAP); ERG (transmembranprotease, serin 2
 (TMPRSS2) ETS-fusjonsgen); N-acetyl-glukosaminyltransferase V (NA17); parret
 10 boksprotein Pax-3 (PAX3); androgenreseptor; syklin B1; v-myc homolog avledet
 fra nevroblastom fra viralt onkogen til aviær myelocytomatose (MYCN); Ras-
 homolog familie medlem C (RhoC); tyrosinaserelatert protein 2 (TRP-2); cytokrom
 P450 1B1 (CYP1B1); CCCTC-bindende faktor (sinkfingerrotein)-lignende, skamøst
 cellekarsinom-antigen gjenkjent av T-celler 3 (SART3); parret boksprotein Pax-5
 15 (PAX5); proakrosinbindende protein sp32 (OY-TES1); lymfocyttspesifikk
 proteintyrosinkinase (LCK); A-kinase-ankerprotein 4 (AKAP-4); synovialt sarkom,
 X-breakpoint 2 (SSX2); reseptor for avanserte glykerte endeprodukter (RAGE-1);
 renal ubikutær 1 (RU1); renal ubikutær 2 (RU2); legumain; humant
 papillomavirus E6 (HPV E6); humant papillomavirus E7 (HPV E7); intestinal
 20 karboksylesterase; varmesjokkprotein 70-2 mutert (mut hsp70-2); CD79a;
 CD79b; CD72; leukocyttassosiert immunoglobulinlignende reseptor 1 (LAIR1); Fc-
 fragment av IgA-reseptor (FCAR eller CD89); leukocyttimmunoglobulinlignende
 reseptor underfamilie A medlem 2 (LILRA2); CD300-molekyl-lignende familie
 medlem f (CD300LF); lektindomene av C-typen familie 12 medlem A (CLEC12A);
 25 benmargs-stromacelleantigen 2 (BST2); EGF-lignende modul-holdig mucin-
 lignende hormonreseptor-lignende 2 (EMR2); lymfocytantigen 75 (LY75);
 glypican-3 (GPC3); Fc-reseptor-lignende 5 (FCRL5); og immunoglobulin lambda-
 lignende polypeptid 1 (IGLL1), f.eks. hvori det antigenbindende domenet binder
 til CD19, mesotelin eller CD123; og/eller
 30 (c) CAR-en omfatter et anti-CD19-antistoff eller et fragment derav, et 4-1BB
 (CD137) -transmembrandomene, og et CD3-zeta-signaleringsdomene.

9. Den vandige sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, hvori

EP3377618

5

- (a) den vandige sammensetningen er fri for ett eller flere proteiner valgt fra gruppen bestående av humant serumalbumin (HSA), rekombinant humant serumalbumin (rHSA), bovint serumalbumin (BSA) og et lipoprotein, *f.eks.* er den vandige sammensetningen fri for HSA, rHSA, BSA og lipoproteiner; og/eller
- 5 (b) den lentivirale vektoren frembringes i celler dyrket i fravær av serum.

10. Den vandige sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, hvori den lentivirale vektoren

- 10 (a) er **karakterisert ved** en hydrodynamisk radius på 100 ± 25 nm målt ved dynamisk lysspredning (DLS), eventuelt hvori den lentivirale vektoren opprettholder den hydrodynamiske radiusen på 100 ± 25 nm i et temperaturområde fra 25 °C til 55 °C;

- 15 (b) er **karakterisert ved** en polydispersitet fra 10 % til 25 %, eventuelt hvori den lentivirale vektoren opprettholder polydispersiteten fra 10 % til 25 % i et temperaturområde fra 25 °C til 55 °C; og/eller

- (c) opprettholder en konsentrasjon etter 3 fryse/tine-sykluser fra ca. 70 % til ca. 100 % i forhold til konsentrasjonen av den lentivirale vektoren i den vandige sammensetningen før fryse/tine-syklusene, hvori hver av fryse/tine-syklusene omfatter å fryse den vandige sammensetningen og deretter å la den vandige sammensetningen tine ved romtemperatur, eventuelt hvori den lentivirale vektoren opprettholder konsentrasjonen fra ca. 70 % til ca. 100 % etter 6 av fryse/tine-syklusene, *f.eks.* etter 9 av fryse/tine-syklusene.
- 20

- 25 **11.** Fremgangsmåte for å rense en lentiviral vektor, der fremgangsmåten omfatter å sende den vandige sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10 gjennom et filter og deretter frembringe en vandig sammensetning som er i det vesentlige fri for mikroorganismer.

- 12.** Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvori

- 30 (a) filteret omfatter en flerhet porer, og hvori porene har en diameter på ca. 0,2 µm; og/eller
- (b) den vandige sammensetningen som er i det vesentlige fri for mikroorganismer, omfatter den lentivirale vektoren i en konsentrasjon på ca. 80 % i forhold til

EP3377618

6

konsentrasjonen av den lentivirale vektoren i den vandige sammensetningen før kontaktingen.

5 **13.** Fremgangsmåte for å rense en lentiviral vektor, der fremgangsmåten omfatter å bringe den vandige sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10 i kontakt med enten:

10 (i) et materiale omfattende en flerhet partikler, hvori fremgangsmåten ytterligere omfatter å separere substanser som strømmer gjennom materialet, fra substanser som forblir i materialet, og derved frembringe en vandig sammensetning som er anriket med den lentivirale vektoren; eller

(ii) en nuklease, og derved frembringe en vandig sammensetning som er i det vesentlige fri for kontaminerende polynukleotider.

15 **14.** Fremgangsmåte for å uttrykke et transgen i en celle, der fremgangsmåten omfatter å bringe cellen i kontakt med den vandige sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, hvori fremgangsmåten ikke er en fremgangsmåte for behandling av en menneske- eller dyrekropp ved kirurgi eller terapi.

20 **15.** Fremgangsmåten ifølge krav 14, hvori cellen er en pattedyrceelle, eventuelt hvori pattedyrcellen er en 293T-celle eller en T-celle, *f.eks.* en human T-celle slik som en Kurkat-T-celle eller en primær human T-celle.

25 **16.** Kit omfattende den vandige sammensetningen ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10 og et pakningsvedlegg.

30 **17.** Kittet ifølge krav 16, hvori pakningsvedlegget gir instruksjoner til en bruker av kittet om å uttrykke et transgen i en celle ifølge fremgangsmåten ifølge krav 14 eller 15, eventuelt hvori kittet ytterligere omfatter en reagens som kan anvendes for å dyrke cellen.

18. Vandig sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, for anvendelse i en fremgangsmåte for å behandle eller forebygge en sykdom hos et individ ved å levere en viral vektor, som eventuelt omfatter et transgen, i en celle

EP3377618

7

til individet, der fremgangsmåten omfatter å administrere sammensetningen til individet.