



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3400287 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 5/071 (2010.01)
C07K 14/78 (2006.01)
C12N 5/079 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.06.14
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.12.30
(86)	European Application Nr.	17704327.0
(86)	European Filing Date	2017.01.03
(87)	The European Application's Publication Date	2018.11.14
(30)	Priority	2016.01.04, US, 201662274700 P 2016.10.28, US, 201662414533 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	The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University, Office of the General Counsel Building 170, Third Floor, Main Quad P.O. Box 20386, Stanford, CA 94305-2038, USA U.S. Government as represented by the Department of Veterans Affairs, 810 Vermont Avenue, Washington, DC 20420, USA
(72)	Inventor	SIPRASHVILI, Zurab, 2660 Flores Street, Apt. 4, San Mateo, California 94403, USA NGUYEN, Ngon T., 4932 Antioch Loop, Union City, California 94587, USA MARINKOVICH, M. Peter, 43 Woodhill Drive, Redwood CityCalifornia 94061, USA TANG, Jean, 853 Esplanada Way, StanfordCalifornia 94305, USA LANE, Alfred T., 1018 Loma Prieta Court, Los AltosCalifornia 94024, USA KHAVARI, Paul A., 4315 Miranda Avenue, Palo AltoCalifornia 94306, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	GENE THERAPY FOR RECESSIVE DYSTROPHIC EPIDERMOLYSIS BULLOSA USING GENETICALLY CORRECTED AUTOLOGOUS KERATINOCYTES
(56)	References Cited:	ZURAB SIPRASHVILI ET AL: "Long-Term Type VII Collagen Restoration to Human Epidermolysis Bullosa Skin Tissue", HUMAN GENE THERAPY, vol. 21, no. 10, 1 October 2010 (2010-10-01), pages 1299-1310, XP055352193, US ISSN: 1043-0342, DOI: 10.1089/hum.2010.023

BIBHUTI B DAS ET AL: "Dystrophic Epidermolysis Bullosa", JOURNAL OF PERINATOLOGY, vol. 24, no. 1, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 41-47, XP055382659, GB ISSN: 0743-8346, DOI: 10.1038/sj.jp.7211019

Z. SIPRASHVILI: "Phase I clinical trial of genetically corrected autologous epidermal keratinocytes for recessive dystrophic epidermolysis bullosa", J INVEST DERMATOL, vol. 134, no. Suppl 1, Abstract 430, 1 January 2014 (2014-01-01), page S75, XP055355868,

MIWA KIMOTO ET AL: "Development of a Bioengineered Corneal Endothelial Cell Sheet to Fit the Corneal Curvature", INVESTIGATIVE OPHTHALMOLOGY & VISUAL SCIENCE, vol. 55, no. 4, 11 April 2014 (2014-04-11), page 2337, XP055382713, US ISSN: 1552-5783, DOI: 10.1167/iops.13-13167

LARA CUTLAR ET AL: "Gene therapy: pursuing restoration of dermal adhesion in recessive dystrophic epidermolysis bullosa", EXPERIMENTAL DERMATOLOGY, vol. 23, no. 1, 30 December 2013 (2013-12-30), pages 1-6, XP055355945, COPENHAGEN; DK ISSN: 0906-6705, DOI: 10.1111/exd.12246

V. SEBASTIANO ET AL: "Human COL7A1-corrected induced pluripotent stem cells for the treatment of recessive dystrophic epidermolysis bullosa", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, vol. 6, no. 264, 26 November 2014 (2014-11-26), pages 264ra163-264ra163, XP055355261, ISSN: 1946-6234, DOI: 10.1126/scitranslmed.3009540

QI WEI ET AL: "Keratinocyte cytoskeletal roles in cell sheet engineering", BMC BIOTECHNOLOGY, BIOMED CENTRAL LTD. LONDON, GB, vol. 13, no. 1, 26 February 2013 (2013-02-26), page 17, XP021141555, ISSN: 1472-6750, DOI: 10.1186/1472-6750-13-17

PERDONI CHRISTOPHER ET AL: "Gene editing toward the use of autologous therapies in recessive dystrophic epidermolysis bullosa", TRANSLATIONAL RESEARCH, vol. 168, 27 May 2015 (2015-05-27), pages 50-58, XP029385953, ISSN: 1931-5244, DOI: 10.1016/J.TRSL.2015.05.008

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/>

[EP3400287]

1

Patentkrav

5 **1.** Keratinocyttsjikt for anvendelse i behandling av recessiv dystrofisk epidermolysis bullosa (RDEB) hos et individ, hvori et transplantat av keratinocyttsjiktet er transplantert på et hudsårslag hos individet som lider av RDEB, og keratinocyttsjiktet er fremstilt ved en fremgangsmåte omfattende trinnene:

 å oppnå en populasjon av hudceller fra individet som lider av RDEB;

10 å korrigere hudcellene ex vivo ved integrering av en genetisk konstruksjon som koder for et funksjonelt kollagen VII (COL7A1) -protein; hvori hudcellene korrigeres ved transduksjon med et virus som omfatter den genetiske konstruksjonen, og hvori proviralt genomkopitall (PGCN) til den transduserte hudcellen ikke er høyere enn 3 og eventuelt lavere enn 2, 1,5, 1, eller 0,5, og eventuelt hvori det funksjonelle COL7A1-proteinet er et fullengdes villtype humant COL7A1-protein; og

15 å dyrke de genetisk korrigerte cellene for å danne et keratinocyttsjikt.

20 **2.** Keratinocyttsjikt omfattende en populasjon av hudceller, hvori hudcellene er transdusert med et virus omfattende en genetisk konstruksjon som koder for et funksjonelt kollagen VII (COL7A1) -protein, hvori hver av hudcellene har et proviralt genomkopitall (PGCN) som ikke er høyere enn 3 og eventuelt lavere enn 2, 1,5, 1, eller 0,5, og eventuelt hvori det funksjonelle COL7A1-proteinet er et fullengdes villtype humant COL7A1-protein.

25 **3.** Sjektet for anvendelse ifølge krav 1 eller sjiktet ifølge krav 2, hvori viruset er et retrovirus, et AAV (adenoassosiert virus) eller et lentivirus.

30 **4.** Sjektet for anvendelse eller sjiktet ifølge krav 3, hvori retroviruset er LZRSE-virus.

5. Sjektet for anvendelse eller sjiktet ifølge krav 4, hvori retroviruset er GalV-pseudotypet.

[EP3400287]

2

6. Sjøktet for anvendelse ifølge krav 1 eller sjøktet ifølge krav 2, hvori hudcellene som slik er transdusert, oppfyller kriteriene for pre-frisetting for virustransduksjonseffektivitet (VTE) >50 %.

5 **7.** Sjøktet for anvendelse ifølge krav 1, hvori hudsårslaget er fritt for ikke-korrigerte sårlagkeratinocytter.

8. Sjøktet for anvendelse ifølge krav 7, hvori hudsårslaget er behandlet for å bevirke ablasjon av de ikke-korrigerte sårlagkeratinocytene.

10

9. Sjøktet for anvendelse ifølge hvilke som helst av kravene 1 og 3-8, hvori cellene er autologe til individet.

15

10. Sjøktet for anvendelse ifølge hvilke som helst av kravene 1 og 3-9, hvori individet er humant.

20

11. Sjøktet for anvendelse ifølge krav 1 eller sjøktet ifølge krav 2, hvori keratinocyttsjøktet utsettes for én eller flere tester valgt fra en VTE-test, PGCN-test, sterilitetstest, endotoksintest, mykoplasmatest, gramfargingssterilitetstest, LEAES-levedyktighetstest, post-frisettingstest, RCR-test, cytotoksisk T-celle-assay, anti-C7 LH24 mAb-karakterisering, elektronmikroskopi, immun-elektronmikroskopi, immunofluorescens-farging, C7-ekspresjon eller AF-analyse.

25

12. Sjøktet for anvendelse eller sjøktet ifølge krav 11, hvori immunofluorescens-fargingen omfatter direkte eller indirekte immunofluorescensfarging.

30

13. Sjøktet for anvendelse ifølge krav 1 eller sjøktet ifølge krav 2, hvori keratinocyttsjøktet er plassert på en acellulær matriks, en kollagenmatriks eller en biokompatibel duk.

14. Sjøktet for anvendelse eller sjøktet ifølge krav 13, hvori den biokompatible duken er dannet av termoplastisk harpiks, polyetylen, polyetylen med ultrahøy molekylvekt, polyolefin med høy molekylvekt, ubelagt monofilamentpolypropylen,

[EP3400287]

polyetereterketon, polyetylentereftalat, polytetrafluoretylen, ekspandert polytetrafluoretylen, nylon, silisium eller en hvilken som helst kombinasjon derav.

5 **15.** Sjøktet for anvendelse ifølge krav 1, eller sjøktet ifølge krav 2, hvori hudcellene omfatter stamceller.

10 **16.** Fremgangsmåte for å danne et keratinocyttsjøkt ifølge krav 2, omfattende å korrigere *ex vivo* en populasjon av hudceller oppnådd fra individet ved å transdukere cellen med et virus omfattende en genetisk konstruksjon som koder for et funksjonelt kollagen VII (COL7A1) -protein, hvori hver av de korrigerte hudcellene har et proviralt genomkopital (PGCN) som ikke er høyere enn 3 og eventuelt lavere enn 2, 1,5, 1 eller 0,5, og eventuelt hvori det funksjonelle COL7A1-proteinet er et fullengdes villtype humant COL7A1-protein; og
15 å dyrke de genetisk korrigerte cellene for å danne keratinocyttjøktet.

15 **17.** Keratinocyttjøkt for anvendelse i behandling av recessiv dystrofisk epidermolysis bullosa (RDEB) hos et individ, hvori et transplantat av keratinocyttjøktet er transplantert på et hudsårslag hos individet, og keratinocyttjøktet er fremstilt ved en fremgangsmåte omfattende trinnene:
20 å oppnå en populasjon av hudceller fra individet som lider av RDEB;
 å korrigere hudcellene *ex vivo* ved integrering av en genetisk konstruksjon som koder for et funksjonelt kollagen VII (COL7A1) -protein, eventuelt hvori det funksjonelle COL7A1-proteinet er et fullengdes villtype humant COL7A1-protein; hvori hudcellene korrigeres ved transduksjon med et LZRSE-COL7A1-virus
25 omfattende den genetiske konstruksjonen;
 hvori proviralt genomkopital (PGCN) til den transduserte hudcellen ikke er høyere enn 3 og eventuelt lavere enn 2, 1,5, 1 eller 0,5; og
 å dyrke de genetisk korrigerte cellene for å danne et keratinocyttjøkt.