



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3436593 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

C12N 15/861 (2006.01)

C12N 7/04 (2006.01)

C12N 15/864 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.03.20
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2022.11.23
(86)	European Application Nr.	17776462.8
(86)	European Filing Date	2017.03.28
(87)	The European Application's Publication Date	2019.02.06
(30)	Priority	2016.03.28, US, 201662314116 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	Ultragenyx Pharmaceutical Inc., 60 Leveroni Court, Novato, CA 94949, USA
(72)	Inventor	MORRISON, Christopher, J., 73 School St., Arlington, MA 02476, USA MARATT, James, D., 44 Lewis Road, Belmont, MA 02478, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **METHODS OF HEAT INACTIVATION OF ADENOVIRUS**

(56) References
Cited:

WO-A1-00/09675
US-A- 6 004 797
US-A1- 2015 024 467
US-A- 5 688 676
WO-A1-2005/118792
V. RAYAPROLU ET AL: "Comparative Analysis of Adeno-Associated Virus Capsid Stability and Dynamics", JOURNAL OF VIROLOGY., vol. 87, no. 24, 25 September 2013 (2013-09-25), pages 13150-13160, XP055511936, US ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.01415-13
E. D. HOROWITZ ET AL: "Biophysical and Ultrastructural Characterization of Adeno-Associated Virus Capsid Uncoating and Genome Release", JOURNAL OF VIROLOGY., vol. 87, no. 6, 26 December 2012 (2012-12-26), pages 2994-3002, XP55615729, US ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.03017-12
LIU ET AL: "Effect of magnesium ions on the thermal stability of human poly(A)-specific ribonuclease", FEBS LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 581, no. 5, 24 February 2007 (2007-02-24), pages 1047-1052, XP005916868, ISSN: 0014-5793, DOI: 10.1016/J.FEBSLET.2007.02.008
WRIGHT J F ET AL: "Identification of factors that contribute to recombinant AAV2 particle aggregation and methods to prevent its occurrence during vector purification and formulation", MOLECULAR THERAPY., vol. 12, no. 1, 1 July 2005 (2005-07-01), pages 171-178, XP004974961, ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1016/J.YMTHE.2005.02.021

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/>

EP3436593

1

Patentkrav

- 5 **1.** Fremgangsmåte for å inaktivere hjelpevirus i en prøve som inneholder
hjelpeviruspartikler, adenoassosierte viruspartikler og en buffer,
fremgangsmåten omfattende:
å varme opp prøven til en temperatur høyere enn eller lik 45 °C i mellom 1
minutt og 6 timer, hvori bufferen omfatter en konsentrasjon på mellom 25 mM
og 500 mM av toverdige eller treverdige kationer, eller en konsentrasjon på
mellom 0,5 M og 0,6 M av kosmotropisk salt.
- 10 **2.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori prøven varmes opp til en temperatur
mellom 45 °C og 65 °C; mellom 45 °C og 60 °C; mellom 45 °C og 55 °C;
mellom 47 °C og 53 °C; eller en temperatur på 48 °C eller 49 °C.
- 15 **3.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori prøven opprettholdes ved temperaturen
i en tidsperiode på mellom 10 og 180 minutter; mellom 20 og 180 minutter;
mellom 20 og 60 minutter; eller mellom 20 og 40 minutter.
- 20 **4.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori fremgangsmåten resulterer i en
loggreduksjon av hjelpevirus på 6,0 eller høyere.
- 25 **5.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den adenoassosierte viruspartikkelen
omfatter et genom
a) på mer enn 4,7 kb DNA;
b) på ca. 5,1 kb DNA;
c) på ca. 4,7 kb DNA;
d) på mindre enn 4,0 kb DNA;
e) ca. 3,0 kb DNA;
eller
30 f) som er i det vesentlige selvkomplementært.
- 6.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori bufferen også omfatter
a) et kaotropt salt; eventuelt hvori det kaotrope saltet er et salt av urea eller et
salt av guanidin;

EP3436593

2

eller

b) et polyol valgt fra gruppen omfattende: glyserol, propylenglykol og 1,6-heksandiol.

- 5 **7.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori bufferen opprettholder pH mellom 3,0 og 10,0, eller mellom 7,0 og 9,0, ved temperaturer mellom 4 °C og 70 °C.
- 10 **8.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori bufferen også omfatter: 40 mM bis-tris propan, 20 mM HEPES, 20 mM sitrat, 200 mM NaCl og 0,001 % (vekt/volum) Pluronic F68.
- 15 **9.** Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvori bufferen er en Tris-buffer; en fosfatbuffer; eller en triazolaminbuffer.
- 20 **10.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori hjelpeviruset er et adenovirus; eventuelt hvori adenoviruset er Ad5.
- 25 **11.** Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1–10, hvori konsentrasjonen av toverdige eller treverdige kationer er:
a) 25 mM til 400 mM;
b) 30 mM til 300 mM;
c) 50 mM til 250 mM;
eller
c) 70 mM til 200 mM.
- 30 **12.** Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1–10, hvori de toverdige eller treverdige kationene velges fra gruppen som består av: Mg, Ca, Mn, Ni, Zn, Co, Sr, Cu, Cr, Fe og Sc;
eventuelt hvori:
a) de toverdige kationene er valgt fra gruppen som består av: Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} og Cr^{2+} ;
eller
b) de treverdige kationene er Sc^{3+} .

EP3436593

3

13. Fremgangsmåten ifølge krav 12, hvori kationene er Mg^{2+} .

5 **14.** Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1–10, hvori det kosmotrope saltet er valgt fra gruppen som består av ammoniumsulfat, ammoniumacetat, natriumcitrat, natriumacetat, natriumsulfat, kaliumfosfat og cesiumklorid.

10 **15.** Fremgangsmåten ifølge krav 14, hvori konsentrasjonen av det kosmotrope saltet er 0,5 M.