

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(10) 国际公布号
WO 2022/262206 A1

(43) 国际公布日
2022 年 12 月 22 日 (22.12.2022) **WIPO | PCT**

- (51) 国际专利分类号:
C12N 7/02 (2006.01) *C12R 1/93* (2006.01)
C12N 15/867 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2021/134470
- (22) 国际申请日: 2021 年 11 月 30 日 (30.11.2021)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202110676917.3 2021年6月18日 (18.06.2021) CN
- (71) 申请人: 浙江康佰裕生物科技有限公司 (CARBIOGENE THERAPEUTICS CO., LTD.)
[CN/CN]; 中国浙江省杭州市滨江区滨安路688号天和高科, Zhejiang 310051 (CN)。
- (72) 发明人: 朱建高 (ZHU, Jiagao); 中国浙江省杭州市滨江区滨安路688号天和高科, Zhejiang 310051 (CN)。李佳佳 (LI, Jiajia); 中国浙江省杭州市滨江区滨安路688号天和高科, Zhejiang 310051 (CN)。杨文君 (YANG, Wenjun); 中国浙江省杭州市滨江区滨安路688号天和高科, Zhejiang 310051 (CN)。
- (74) 代理人: 杭州裕阳联合专利代理有限公司 (HANGZHOU YUYANG UNIONPATENT AGENCY CO., LTD.); 中国浙江省杭州市下城区体育场路105号凯喜雅大厦8楼, Zhejiang 310004 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 关于发明人身份(细则4.17(i))
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: PURIFICATION METHOD FOR AND APPLICATION OF GMP-GRADE RETROVIRAL VECTOR

(54) 发明名称: GMP级逆转录病毒载体的纯化方法与应用

(57) Abstract: Disclosed is a method for purifying a retrovirus (retroviral vector), comprising the following steps: A), micro-filtering a cell culture supernatant containing a retrovirus so as to remove cell debris from the cell culture supernatant, and obtaining a micro-filtered virus solution; B), treating the microfiltered virus solution with a nuclease so as to degrade host DNA residues into small DNA fragments, and obtaining an enzyme-digested virus solution; C), ultra-filtering the enzyme-digested virus solution such that the retrovirus is retained in a retentate, collecting the retentate, and obtaining an ultra-filtered virus solution; and D), performing low-speed centrifugation treatment on the ultra-filtered virus solution so as to precipitate the retrovirus, collecting the precipitate, and obtaining a virus that has not undergone sterilization. The retrovirus product obtained by the described method ensures the purity of the retrovirus solution, and at the same time, the titer of the concentrated virus solution can reach 10^7 IP/ml, which meets downstream processing requirements.

(57) 摘要: 公开了纯化逆转录病毒(逆转录病毒载体)的方法, 包括以下步骤: A)、对含有逆转录病毒的细胞培养上清液进行微滤处理, 以除去细胞培养上清液中的细胞碎片, 获得微滤病毒液; B)、对微滤病毒液进行核酸酶处理, 以将宿主DNA残留降解为小片段DNA, 获得酶消化病毒液; C)、将酶消化病毒液进行超滤, 使逆转录病毒留在截留液中, 收集截留液, 获得超滤病毒液; D)、低速离心处理超滤病毒液, 使逆转录病毒沉淀, 收集沉淀, 得到未经除菌的病毒。该方法获得的逆转录病毒产品在保证逆转录病毒液纯度的同时, 浓缩病毒液滴度达到 10^7 IP/ml, 符合下游工艺要求。

WO 2022/262206 A1