



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2341943 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07H 21/02 (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.03.11
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.11.07
(86)	European Application Nr.	09814902.4
(86)	European Filing Date	2009.09.17
(87)	The European Application's Publication Date	2011.07.13
(30)	Priority	2008.09.22, US, 136736 P 2008.09.22, US, 136741 P
(84)	Designated Contracting States:	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 ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Dicerna Pharmaceuticals, Inc., 87 Cambridgepark Drive, Cambridge, MA 02140, USA
(72)	Inventor	BROWN, Bob, 57 Grist Mill Road, Littleton ,MA 01460, USA
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54) Title **COMPOSITIONS AND METHODS FOR THE SPECIFIC INHIBITION OF GENE EXPRESSION
BY DSRNA POSSESSING MODIFICATIONS**

(56) References
Cited: US-A1- 2006 009 402, HARBORTH ET AL.: 'Sequence, Chemical, and Structural Variation of
Small Interfering RNAs and Short Hairpin RNAs and the Effect on Mammalian Gene Silencing.'
ANTISENSE NUCLEIC ACID DRUG DEV. vol. 13, no. 2, April 2003, pages 83 - 105,
XP002284355, PAOLO FRUSCOLONI ET AL: "Exonucleolytic degradation of double-stranded
RNA by an activity in *Xenopus laevis* germinal vesicles", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL
ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 100, no. 4, 18
February 2003 (2003-02-18), pages 1639-1644, XP008150373, ISSN: 0027-8424, DOI:
10.1073/PNAS.252777499 [retrieved on 2003-02-10], HARBORTH J ET AL: "Sequence,
chemical, and structural variation of small interfering RNAs and short hairpin RNAs and the effect
on mammalian gene silencing", ANTISENSE & NUCLEIC ACID DRUG DEVELOPMENT, MARY
ANN LIEBERT, INC., NEW YORK, US, vol. 13, no. 2, 2003, pages 83-105, XP002284355, ISSN:
1087-2906, DOI: 10.1089/108729003321629638, MATRANGA ET AL.: 'Passenger-Strand
Cleavage Facilitates Assembly of siRNA into Ago2- Containing RNAi Enzyme Complexes.'
CELL, [Online] vol. 123, no. 4, 18 November 2005, pages 607 - 620, XP002484663 Retrieved

from the Internet: <URL:<<http://download.cell.com/mmc/s/0092-8674/PIIS0092867405009220.mmc1.pdf>>.>, FRUSCOLONI ET AL.: 'Exonucleolytic degradation of double-stranded RNA by an activity in *Xenopus laevis* germinal vesicles.' PNAS vol. 100, no. 4, 18 February 2003, pages 1639 - 1644, XP008150373, LEUSCHNER ET AL.: 'Cleavage of the siRNA passenger strand during RISC assembly in human cells.' EMBO REPORTS vol. 7, no. 3, March 2006, pages 314 - 320, XP002467845, VLASSOV A.V. ET AL.: "shRNAs targeting Hepatitis C: effects of sequence and structural features, and comparison with siRNA", OLIGONUCLEOTIDES, vol. 17, no. 2, 2007, pages 223-236, XP055035981, ISSN: 1545-4576, DOI: 10.1089/oli.2006.0069, NAGEL R ET AL: "Substrate recognition by a eukaryotic RNase III: the double-stranded RNA-binding domain of Rnt1p selectively binds RNA containing a 5'-AGNN-3' tetraloop", RNA, COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, US, vol. 6, no. 8, 2000, pages 1142-1156, XP008150370, ISSN: 1355-8382, LEUSCHNER P J F ET AL: "Cleavage of the siRNA passenger strand during RISC assembly in human cells", EMBO REPORTS, XX, XX, vol. 7, no. 3, 2006, pages 314-320, XP002467845,, WU ET AL.: 'Structural basis for recognition of the AGNN tetraloop RNA fold by the double- stranded RNA-binding domain of Rnt1p RNase III.' PNAS vol. 101, no. 22, 01 June 2004, pages 8307 - 8312, XP008150375, WO-A1-2008/049078, SCHNEIDER C. ET AL.: "A molecular dynamics simulation study of coaxial stacking in RNA", JOURNAL OF BIOMOLECULAR STRUCTURE AND DYNAMICS, vol. 18, no. 3, December 2000 (2000-12), pages 345-352, XP008161347, ISSN: 0739-1102, HAIHONG WU ET AL: "Structural basis for recognition of the AGNN tetraloop RNA fold by the double-stranded RNA-binding domain of Rnt1p RNase III", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 101, no. 22, 2004, pages 8307-8312, XP008150375, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.0402627101 [retrieved on 2004-05-18], NAGEL ET AL.: 'Substrate recognition by a eukaryotic RNase III: the double-stranded RNA-binding domain of Rnt1p selectively binds RNA containing a 5'-AGNN-3' tetraloop.' RNA. vol. 6, no. 8, August 2000, pages 1142 - 1156, XP008150370, ZENG Y. AND CULLEN B.R.: "Structural requirements for pre-MicroRNA binding and nuclear export by Exportin 5", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 32, no. 16, 2004, pages 4776-4785, XP002989681, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/NAR/GKH824

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/>

Patentkrav

1. Isolert dobbeltstrenget RNA (dsRNA) omfattende:

- 5 i) en første streng hvor nevnte første streng er 19-80 nukleotider i lengde, og
ii) en andre streng, hvor nevnte andre streng er 19-35 nukleotider i lengde,
hvor med henvisning til hvilken som helst av Figurer 1A, 1B, 5A og 5B, de
første og andre strengene utgjør et dupleks i Region B med 15-35 basepar i
lengde;

10 hvor den første streng omfatter en Region E ved 3'-terminalen, hvor Region E
omfatter en tetraløkke; og
dsRNA-et omfatter en diskontinuitet mellom 3'-terminalen til den første strengen og
5'-terminalen til den andre strengen,
hvor dsRNA-et reduserer målgenuttrykk i en pattedyrceile.

15 2. Isolert dsRNA ifølge krav 1, hvor den andre strengen utgjør en stump ende med 5'-
terminalen på den første strengen eller omfatter et 3'-overheng bestående av 1, 2, 3
eller 4 nukleotider.

20 3. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 1-2, hvor tetraløkken omfatter
ribonukleotider, deoksyribonukleotider, modifiserte nukleotider, eller kombinasjoner
derav.

25 4. Isolert dsRNA ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvor nevnte tetraløkke har
en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen bestående av UNCG, GNRA, CUUG, d(GNNA),
d(GNAB), d(CNNG), d(TNCG), UUCG, GAAA, d(GTTA), og d(TTCG).

30 5. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 1-4, hvor tetraløkken flankeres
ved 5'-enden av en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen bestående av C, CC, G, og
GG, og hvor tetraløkken flankeres ved 3'-enden av en nukleinsyresekvens som
duplekserer med en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen bestående av C, CC, G, og GG
eller en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen bestående av C, CC, G, og GG.

35 6. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 1-5, hvor den andre strengen er
defosforlyert ved 5'-terminalen.

7. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 1-6, hvor den første strengen er fosforylert ved 5'-terminalen.

5 8. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 1-7, hvor den andre strengen duplekserer til et mål-RNA langs minst 19-23 nukleotider av lengden til den andre strengen.

10 9. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 1-8, hvor dsRNA-et, når det blir introdusert inn i en pattedyr-celle, reduserer målgenuttrykk i sammenligning med et referanse-dsRNA.

10. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 1-9, videre omfattende én eller flere modifiserte nukleotider.

15 11. Isolert dsRNA ifølge krav 10, hvor det modifiserte nukleotidet har en modifikasjon valgt fra gruppen bestående av 2'-O-metyl, 2'-metoksyetoksy, 2'-fluor, 2'-allyl, 2'-O-[2-(metylamino)-2-oksoetyl], 4'-tio, 4'-CH₂-O-2'-bro, 4'-(CH₂)₂-O-2'-bro, 2'-LNA, og 2'-O-(N-metylkarbamat).

20 12. Isolert dsRNA ifølge krav 10, hvor den første strengen omfatter et modifisert nukleotid i Region C distalt til tetraløkken eller ved alle posisjoner i Region C distalt til tetraløkken.

25 13. Isolert dsRNA ifølge krav 10, hvor den første strengen omfatter et deoksyribonukleotid eller modifisert nukleotid i Region C proksimalt til tetraløkken i posisjon 1, 2, eller 1 og 2 fra 3'-enden til den første strengen i Region C.

30 14. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 10-13, hvor de modifiserte nukleotidene er ribonukleotider med en 2'-O-metylmodifisering.

15. Isolert dsRNA ifølge hvilket som helst av kravene 1-14, hvor dsRNA-er forbedrer spaltning av Dicer i sammenligning med et referanse-dsRNA.

35 16. Isolert dsRNA ifølge krav 1, hvor nevnte andre streng er 19-23 nukleotider i lengde.

17. Isolert dsRNA ifølge krav 1, hvor den første strengen er 35-40 nukleotider i lengde og den andre strengen er 21-24 nukleotider i lengde.

5 18. Isolert dsRNA ifølge krav 1, hvor nevnte første streng er 35-39 nukleotider i lengde, hvor nukleotider 11-16 fra 3'-terminalen til den første strengen utgjør en dupleks med nukleotider 1-6 fra 3'-terminalen til den første strengen, og hvor nukleotider 7-10 fra 3'-terminalen til den første strengen utgjør en tetraløkke; og hvor den andre strengen er 16 nukleotider kortere i lengde enn den første strengen, og hvor alle nukleotidene som begynner fra 3'-terminalen til den andre strengen utgjør
10 en dupleks med samme antall nukleotider som begynner ved 5'-terminalen til den første strengen.

19. Isolert dsRNA ifølge krav 1, hvor nevnte dupleks er 19-26 nukleotider i lengde.