



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2870246 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/113 (2010.01)
A61K 31/7088 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2020.01.20
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.09.11
(86)	European Application Nr.	13739847.5
(86)	European Filing Date	2013.07.03
(87)	The European Application's Publication Date	2015.05.13
(30)	Priority	2012.07.03, EP, 12174781 2012.07.03, US, 201261667517 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	BioMarin Technologies B.V., J.H. Oortweg 21, 2333 CH Leiden, Nederland
(72)	Inventor	VAN DEUTEKOM, Judith Christina Theodora, Abeelstraat 13, 3329 AA Dordrecht, Nederland
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	OLIGONUCLEOTIDE FOR THE TREATMENT OF MUSCULAR DYSTROPHY PATIENTS
(56)	References Cited:	WO-A1-00/76554 WO-A1-2006/000057 WO-A1-2011/057350 WO-A1-2012/109296 US-A1- 2012 046 348 WO-A2-2011/078797 WO-A2-2004/083446 WO-A1-2013/112053 ANNEMIEKE AARTSMA-RUS ET AL: "Exonic Sequences Provide Better Targets for Antisense Oligonucleotides Than Splice Site Sequences in the Modulation of Duchenne Muscular Dystrophy Splicing", OLIGONUCLEOTIDES, vol. 20, no. 2, 1 April 2010 (2010-04-01), pages 69-77, XP055024186, ISSN: 1545-4576, DOI: 10.1089/oli.2009.0215 YOKOTA TOSHIFUMI ET AL: "Antisense oligo-mediated multiple exon skipping in a dog model of duchenne muscular dystrophy.", METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, vol. 709, 2011, pages 299-312, XP008158625, ISSN: 1940-6029 cited in the application

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. Fremgangsmåte for utforming av et oligonukleotid for fremstilling av et funksjonelt eller semifunksjonelt protein, hvor nevnte fremgangsmåte omfatter følgende trinn:

- 5 (a) å identifisere en inn-ramme- (in frame)-kombinasjon av et første og et andre ekson i et samme pre-mRNA, hvor en region av nevnte andre ekson har minst 50% identitet med en region av nevnte første ekson;
- (b) å utforme et oligonukleotid som er i stand til å binde seg til nevnte region av nevnte første ekson og nevnte region av nevnte andre ekson;
- 10 (c) hvor nevnte binding resulterer i utelatelse av nevnte første og nevnte andre ekson, fortrinnsvis ved utelatelse av en multieksonstrekning som begynner med nevnte første ekson og omfatter en eller flere eksoner tilstede mellom nevnte første og nevnte andre ekson og på det meste utelatelse av hele eksonstrekningen mellom nevnte første og nevnte andre ekson, og
- 15 (d) hvor nevnte fremgangsmåte fører til et oligonukleotid.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor oligonukleotidet er i stand til å binde seg til en del av en region innenfor et første ekson og en del av en region innenfor en andre region.

20

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor bindingen av nevnte oligonukleotid er i stand til å forstyrre minst en spleisingsreguleringssekvens i nevnte regioner av første og andre ekson og/eller med den sekundære strukturen som omfatter minst nevnte første og/eller nevnte andre ekson i nevnte pre-mRNA, fortrinnsvis, hvor nevnte spleisingsreguleringssekvens omfatter en eksonisk spleisingsforsterker (ESE), en eksongjenkjenningssekvens (ERS) og/eller et bindingssete for et serin-arginin- (SR)-protein.

25

4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor oligonukleotidet er i stand til å indusere utelatelsen av hele strekningen av eksoner mellom nevnte første ekson og nevnte andre ekson.

30

5. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor nevnte oligonukleotid omfatter 10 til 40 nukleotider.

35

6. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor nevnte oligonukleotid omfatter minst en modifisering sammenlignet med et naturlig fore-

kommende ribonukleotid- eller deoksyribonukleotidbasert oligonukleotid, mer fortrinnsvis

- (a) minst en basemodifisering, fortrinnsvis valgt fra 2-tiouracil, 2-tiotymin, 5-metylcytosin, 5-metyluracil, tymin, 2,6-diaminopurin, mer fortrinnsvis valgt fra 5-metylpyrimidin og 2,6-diaminopurin; og/eller
- (b) minst en sukkermodifisering, fortrinnsvis valgt fra 2'-O-metyl, 2'-O-(2-metoksy)etyl, 2'-O-deoksy (DNA), 2'-F, morfolino, et brodannet nukleotid eller BNA, eller oligonukleotidet omfatter både brodannede nukleotider og 2'-deoksymodifiserte nukleotider (BNA/DNA-blandere (mixmers)), mer fortrinnsvis er sukkermodifiseringen 2'-O-metyl; og/eller
- (c) minst en ryggradmodifisering, fortrinnsvis valgt fra fosfortioat eller fosfordiamidat, mer fortrinnsvis er ryggradmodifiseringen fosfortioat.

7. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor nevnte oligonukleotid omfatter en eller flere konjugatgrupper, eventuelt beskyttet, valgt fra gruppen bestående av peptider, proteiner, karbohydrater, legemidler, målrettingskomponenter, opptaksforbedrende komponenter, løselighetsforbedrende komponenter, farmakodynamikkforbedrende komponenter, farmakokinetikkforbedrende komponenter, polymerer, etylenglykolderivater, vitaminer, lipider, polyfluoralkylkomponenter, steroider, kolesterol, fluorescerende komponenter, reportermolekyler, radioaktivt merkede komponenter og kombinasjoner derav, festet direkte eller *via* en divalent eller multivalent linker, til en terminal eller intern rest.

8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor nevnte første og andre ekson er valgt fra eksoner 10, 18, 30, 8, 9 11, 13, 19, 22, 23, 34, 40, 42, 44, 45, 47, 51, 53, 55, 56, 57 eller 60 av dystrofinpre-mRNA.

9. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor nevnte første ekson er ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 44, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 55, 57, 59 eller 60.

10. Fremgangsmåte ifølge krav 8 eller 9, hvor oligonukleotidet er i stand til å indusere utelatelsen av dystrofineksoner 10 til 18, -eksoner 10 til 30, -eksoner 10 til 42, -eksoner 10 til 47, -eksoner 10 til 57, -eksoner 10 til 60, -eksoner 8 til 19, -eksoner 9 til 22, -eksoner 9 til 30, -eksoner 11 til 23, -eksoner 13 til 30, -eksoner

23 til 42, -eksoner 34 til 53, -eksoner 40 til 53, -eksoner 44 til 56, -eksoner 45 til 51, -eksoner 45 til 53, -eksoner 45 til 55, -eksoner 45 til 60, og/eller -eksoner 56 til 60.

11. Antisensoligonukleotid tilveiebringbar ved fremgangsmåten ifølge hvilket som helst
- 5 av kravene 1 til 10, hvor nevnte oligonukleotid er i stand til å binde seg til en region innenfor et første ekson og en region innenfor et andre ekson, hvor nevnte region av nevnte andre ekson har minst 50% identitet med nevnte region av nevnte første ekson,
- hvor nevnte første og nevnte andre ekson er innenfor samme dystrofinpre-mRNA i
- 10 nevnte individ,
- hvor nevnte binding av nevnte oligonukleotid er i stand til å forstyrre minst en spleisingsreguleringssekvens i nevnte regioner av nevnte første og andre eksoner og/eller med den sekundære strukturen som omfatter minst nevnte første og/eller nevnte andre ekson i nevnte pre-mRNA,
- 15 hvor nevnte spleisingsreguleringssekvens omfatter en eksonisk spleisingsforsterker (ESE), en eksongjenkjenningssekvens (ERS) og/eller et bindingssete for et serin-arginin- (SR)-protein, eller og/eller
- hvor nevnte binding av nevnte oligonukleotid resulterer i utelatelsen av nevnte første ekson og av nevnte andre ekson, fortrinnsvis ved utelatelsen av en multiekson-
- 20 strekning som begynner med nevnte første ekson og omfatter en eller flere eksoner tilstede mellom nevnte første og nevnte andre ekson og på det meste utelatelsen av hele eksonstrekningen mellom nevnte første og nevnte andre eksoner,
- hvor en inn-ramme- (in-frame)-transkripsjon er tilveiebragt som tillater produksjon av et funksjonelt eller semifunksjonelt dystrofin og
- 25 hvor nevnte oligonukleotidsekvens ikke er en del av en blanding eller en kombinasjon av to eller flere distinkte oligonukleotidsekvenser som muligens er koblet med en eller flere linker(e), hvor nevnte første og andre ekson er definert som følger:
- første ekson er ekson 10 og andre ekson er 18,
 - første ekson er ekson 10 og andre ekson er 30,
 - 30 - første ekson er ekson 10 og andre ekson er 42,
 - første ekson er ekson 10 og andre ekson er 47,
 - første ekson er ekson 10 og andre ekson er 57, eller
 - første ekson er ekson 10 og andre ekson er 60.

12. Oligonukleotid ifølge krav 11, hvor:

- region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 109 og region av ekson 18 omfatter eller består av SEKV ID NR: 110 når nevnte første ekson er ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 18;
- 5 - region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 1766 og region av ekson 18 omfatter eller består av SEKV ID NR: 1767 når nevnte første ekson er ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 18;
- region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 1768 og region av ekson 18 omfatter eller består av SEKV ID NR: 1769 når nevnte første ekson er
- 10 ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 18;
- region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 127 og region av ekson 30 omfatter eller består av SEKV ID NR: 128 når nevnte første ekson er ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 30;
- region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 1772 og region av
- 15 ekson 30 omfatter eller består av SEKV ID NR: 1773 når nevnte første ekson er ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 30;
- region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 151 og region av ekson 42 omfatter eller består av SEKV ID NR: 152 når nevnte første ekson er ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 42;
- 20 - region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 157 og region av ekson 47 omfatter eller består av SEKV ID NR: 158 når nevnte første ekson er ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 47;
- region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 169 og region av ekson 57 omfatter eller består av SEKV ID NR: 170 når nevnte første ekson er
- 25 ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 57; eller
- region av ekson 10 omfatter eller består av SEKV ID NR: 173 og region av ekson 60 omfatter eller består av SEKV ID NR: 174 når nevnte første ekson er ekson 10 og nevnte andre ekson er ekson 60.

- 30 13. Oligonukleotid ifølge krav 11 eller 12, omfattende basesekvensen som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1673-1681, 1684-1686, 1688, 1689, 1778, 1780-1787, 1812-1851 eller 1884-1891, og med en lengde, som er definert av antall nukleotider tilstede i nevnte basesekvens eller som er 1, 2, 3, 4 eller 5 nukleotider lenger.

35

14. Oligonukleotid ifølge et hvilket som helst av kravene 11 til 13, omfattende en del av basesekvensen som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1673-1681, 1684-

1686, 1688, 1689, 1778, 1780-1787, 1812-1851 eller 1884-1891 hvor nevnte del tilsvarende basesekvensen som definert i hvilken som helst av nevnte sekvenser med 1, 2, 3, 4 eller 5 nukleotider mindre enn definert i nevnte basesekvens.

- 5 15. Oligonukleotid ifølge krav 14, omfattende:
- (a) basesekvensen som definert i hvilken som helst av SEKV ID NR: 1679 til 1681, 1778, 1812, 1813, 1884 til 1886, 1890, eller 1891, og med en lengde på 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider eller SEKV ID NR: 1814 og med en lengde på 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider; eller
 - 10 (b) basesekvensen som definert i SEKV ID NR: 1688, 1689, eller 1839 til 1844, og med en lengde på 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider; eller
 - (c) basesekvensen som definert i SEKV ID NR: 1673 eller 1674 og med en lengde på 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider; eller
 - 15 (d) basesekvensen som definert i SEKV ID NR: 1675 eller 1676 og med en lengde på 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider; eller
 - (e) basesekvensen som definert i SEKV ID NR: 1677 eller 1678 og med en lengde på 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider; eller
 - 20 (f) basesekvensen som definert i hvilken som helst av SEKV ID NR: 1684 til 1686 og med en lengde på 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider; eller
 - (g) basesekvensen som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1815 til 1819 og med en lengde på 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller
 - 25 (h) basesekvensen som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1820, 1824, og med en lengde på 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller
 - (i) basesekvensen som definert i hvilken som helst av SEKV ID NR: 1826, 1780, 1782, 1832 og med en lengde på 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller
 - 30 (j) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1821, 1825 og med en lengde på 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller
 - (k) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1822 og med en lengde på 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller
 - 35 (l) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1823, 1781, 1829, 1830, 1831 og med en lengde på 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

(m) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1783, 1833, 1834, 1835 og med en lengde på 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

5 (n) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1887 og med en lengde på 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

(o) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1888 eller 1889 og med en lengde på 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

(p) basesekvens som definert i SEKV ID NR: 1827 og med en lengde på 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

10 (q) basesekvens som definert i SEKV ID NR: 1828 og med en lengde på 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

(r) basesekvens som definert i hvilken som helst av SEKV ID NR: 1784, 1836 og med en lengde på 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

15 (s) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1786, 1838 og med en lengde på 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

(t) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1780 og med en lengde på 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

20 (u) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1785, 1837 og med en lengde på 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

(v) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1845, 1846, 1847, 1848 og med en lengde på 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

25 (w) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1849, 1850 og med en lengde på 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider, eller

(x) basesekvens som definert i hvilket som helst av SEKV ID NR: 1787, 1851 og med en lengde på 26, 27, 28, 29 eller 30 nukleotider.

30 16. Oligonukleotid ifølge et hvilket som helst av kravene 11-15, for anvendelse som et medikament for å forhindre, forsinke, lindre og/eller behandle en sykdom hos et individ.

35 17. Sammensetning omfattende et enkelt oligonukleotid ifølge et hvilket som helst av kravene 11-15 og eventuelt videre omfattende en farmasøytisk akseptabel bærer, fortynningsmiddel, eksipiens, salt, adjuvans og/eller løsningsmiddel, fortrinnsvis hvor nevnte sammensetning omfatter to eller flere identiske oligonukleotider som definert i hvilket som helst av kravene 11 til 15 koblet med et motion, fortrinnsvis kalsium, mer

fortrinnsvis hvor nevnte sammensetning er for anvendelse som et medikament for å forhindre, forsinke, lindre og/eller behandle DMD eller BMD hos et individ.