



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2890780 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 5/071 (2010.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/805 (2006.01)
C12N 9/22 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45) Translation Published 2020.11.09

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2020.06.24

(86) European Application Nr. 13833658.1

(86) European Filing Date 2013.08.29

(87) The European Application's Publication Date 2015.07.08

(30) Priority 2012.08.29, US, 201261694693 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

Designated Extension States: BA ; ME

(73) Proprietor Sangamo Therapeutics, Inc., 7000 Marina Blvd, Brisbane, CA 94005, USA

(72) Inventor COST, Gregory J., c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
GREGORY, Philip D., c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
GUSCHIN, Dmitry, c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
HOLMES, Michael C., c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
MILLER, Jeffrey C., c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
PASCHON, David, c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
REBAR, Edward J., c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
REIK, Andreas, c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
URNOV, Fyodor, c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA
ZHANG, Lei, c/o Sangamo BioSciences Inc.Point Richmond Tech Center501 Canal Blvd.Suite A100, RichmondCalifornia 94804, USA

(74) Agent or Attorney TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

-
- (54) Title **METHODS AND COMPOSITIONS FOR TREATMENT OF A GENETIC CONDITION**
- (56) References
- Cited:
- US-A1- 2012 142 062
- US-A1- 2010 261 271
- WO-A1-2013/126794
- US-B1- 8 012 946
- WO-A2-2010/030963
- WO-A2-02/42459
- WO-A2-2014/186585
- SANKARAN VIJAY G ET AL: "Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific repressor BCL11A", SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 322, no. 5909, 19 December 2008 (2008-12-19), pages 1839-1842, XP002603797, ISSN: 0036-8075
- DANIEL E BAUER ET AL: "Update on fetal hemoglobin gene regulation in hemoglobinopathies", CURRENT OPINION IN PEDIATRICS., vol. 23, no. 1, 1 February 2011 (2011-02-01), pages 1-8, XP055259213, US ISSN: 1040-8703, DOI: 10.1097/MOP.0b013e3283420fd0
- SEDGEWICK A E ET AL: "BCL11A is a major HbF quantitative trait locus in three different populations with beta-hemoglobinopathies", BLOOD CELLS, MOLECULES AND DISEASES, LAJOLLA, US, vol. 41, no. 3, 1 November 2008 (2008-11-01), pages 255-258, XP025504678, ISSN: 1079-9796, DOI: 10.1016/J.BCMD.2008.06.007 [retrieved on 2008-08-08]
- VIJAY G. SANKARAN ET AL: "Developmental and species-divergent globin switching are driven by BCL11A", NATURE, vol. 460, no. 7259, 5 August 2009 (2009-08-05), pages 1093-1097, XP055260135, United Kingdom ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/nature08243
- FYODOR D. URNOV ET AL: "Genome editing with engineered zinc finger nucleases", NATURE REVIEWS GENETICS, vol. 11, no. 9, 1 September 2010 (2010-09-01), pages 636-646, XP055198280, ISSN: 1471-0056, DOI: 10.1038/nrg2842
- NING SUN ET AL: "Optimized TAL effector nucleases (TALENs) for use in treatment of sickle cell disease", MOLECULAR BIOSYSTEMS, vol. 8, no. 4, 1 January 2012 (2012-01-01), page 1255, XP055081815, ISSN: 1742-206X, DOI: 10.1039/c2mb05461b
- NATHALIA HOLT ET AL: "Human hematopoietic stem/progenitor cells modified by zincfinger nucleases targeted to CCR5 control HIV-1 in vivo", NATURE BIOTECHNOLOGY, vol. 28, no. 8, 2 July 2010 (2010-07-02), pages 839-847, XP055101952, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/nbt.1663
- VITTORIO SEBASTIANO ET AL: "In Situ Genetic Correction of the Sickle Cell Anemia Mutation in Human Induced Pluripotent Stem Cells Using Engineered Zinc Finger Nucleases", STEM CELLS., vol. 29, no. 11, 25 October 2011 (2011-10-25), pages 1717-1726, XP055260055, US ISSN: 1066-5099, DOI: 10.1002/stem.718
- UDA MANUELA ET AL: "Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and Amelioration of the phenotype of betathalassemia", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 105, no. 5, 1 February 2008 (2008-02-01), pages 1620-1625, XP002506825, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.0711566105
- BAUER D E ET AL: "Reawakening fetal hemoglobin: prospects for new therapies for the beta-globin disorders", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 120, no. 15, 17 August 2012 (2012-08-17), pages 2945-2953, XP002721961, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2012-06-292078 [retrieved on 2012-08-17]

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

- 5 **1.** En genmodifisert røde blodforløpercelle **karakterisert ved** en genmodifisering inne i exon 2 eller exon 4 av BCL11A eller inne i BCL11A-XL laget etter spalting inne i BCL11A-genet med en sink-finger nuklease (ZFN), en TALE-nuklease (TALEN) eller et CRISPR/Cas system som binder til et mål-sete inne i en hvilken som helst av SEQ ID NO: 56, 63, 66, 71, 160, 170, 179, 183, 189, 193, 197, 200, 203, 207, 211 og 213 slik at BCL11A-genet blir inaktivert og gamma-globin ekspresjonen blir økt.
- 10 **2.** Den genmodifiserte røde blodforløpercelle ifølge krav 1, hvor cellen er en hematopoietisk stamcelle.
- 3.** Den genmodifiserte røde blodforløpercellen ifølge krav 1, hvor:
- 15 (a) BCL11A-genet er spaltet av en sink-finger nuklease;
- (b) nukleasen er introdusert inn i cellen som et polynukleotid; eller
- (c) genmodifiseringen omfatter integreringen av et donorpolynukleotid som koder for et transgen.
- 20 **4.** Den genmodifiserte røde blodforløpercellen ifølge krav 1, hvor sink-finger nukleasen omfatter et sink-finger protein som omfatter 5 eller 6 sink-finger domener som omfatter en gjenkjennelses heliks og videre hvor sink-finger proteinet omfatter gjenkjennelses heliksområdene i rekkefølgen vist i en enkel rad i tabell 1A av proteinene betegnet SBS#39172, SBS#43490, SBS#44642, SBS#45148, SBS#45147, SBS#39145,
- 25 SBS#44490, SBS#44489, SBS#45081, SBS#44493, SBS#29527, SBS#29528, SBS#29525, SBS#29526, SBS#34678, SBS#34642, SBS#44889, SBS#44888, SBS#44905, SBS#44904, SBS#44911, SBS#44910, SBS#44945, SBS#44944, SBS#44947 eller SBS#44946.
- 30 **5.** Et sink-finger protein som omfatter 5 eller 6 sink-finger domener som omfatter et gjenkjennelses heliksområde, hvor sink-finger proteinet omfatter gjenkjennelses heliksområdene i rekkefølgen vist i en enkel rad i tabell 1A av proteinene betegnet SBS#39172, SBS#43490, SBS#44642, SBS#45148, SBS#45147, SBS#39145, SBS#44490, SBS#44489, SBS#45081, SBS#44493, SBS#29527, SBS#29528,
- 35 SBS#29525, SBS#29526, SBS#34678, SBS#34642, SBS#44889, SBS#44888,

SBS#44905, SBS#44904, SBS#44911, SBS#44910, SBS#44945, SBS#44944,
SBS#44947 eller SBS#44946.

5 **6.** Et fusjonsprotein som omfatter sink-finger proteinet ifølge krav 5 og et vill-type eller konstruert spaltings domene eller vill-type eller konstruert spaltings halv-domene.

7. Et polynukleotid som koder for ett eller flere proteiner ifølge krav 5 eller krav 6.

8. En isolert celle som omfatter ett eller flere fusjonsproteiner ifølge krav 6 eller ett eller flere polynukleotider ifølge krav 7.

10

9. Cellen ifølge krav 8, hvor cellen er valgt fra gruppen bestående av et rødt blodlegeme (RBC) eller en forløpercelle, slik som en CD34+ hematopoietisk stamcelle.

15 **10.** Et sett som omfatter proteinet ifølge krav 5, fusjonsproteinet ifølge krav 6 eller polynukleotidet ifølge krav 7.

11. En *in vitro* fremgangsmåte for å endre globingen-ekspressjonen i en celle, hvor fremgangsmåten omfatter:

20 å introdusere, inn i cellen, ett eller flere proteiner ifølge krav 5 eller krav 6 eller ett eller flere polynukleotider ifølge krav 7, under betingelser slik at det ene eller de flere proteinene blir uttrykt og ekspressjonen av globingenet blir endret.

25 **12.** Det ene eller de flere proteinene ifølge krav 5 eller krav 6 eller det ene eller de flere polynukleotidene ifølge krav 7 for anvendelse i en fremgangsmåte for å behandle en hemoglobinopati, hvor fremgangsmåten omfatter:

å introdusere, inn i cellen, det ene eller de flere proteinene ifølge krav 5 eller krav 6 eller det ene eller de flere polynukleotidene ifølge krav 7, under betingelser slik at det ene eller de flere proteinene blir uttrykt og ekspressjonen av globingenet blir endret.

30 **13.** Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvor:

(a) proteinene øker ekspressjonen av globingenet, slik som et gamma-globin- eller beta-globingen;

(b) fremgangsmåten omfatter videre å integrere en donorsekvens inn i

genomet til cellen, for eksempel, ved å introdusere donorsekvensen til cellen ved å anvende en virusvektor, et oligonukleotid eller et plasmid;

(c) cellen er et rødt blodlegeme (RBC) forløpercelle, slik som en CD34+ hematopoietisk stamcelle; og/eller

5 (d) donorsekvensen omfatter et transgen under kontrollen av en endogen promoter eller en eksogen promoter.

14. Det ene eller de flere proteinene eller det ene eller de flere polynukleotidene for anvendelse i henhold til krav 12, hvor hemoglobinopati er en talassemi.

10

15. Det ene eller de flere proteinene ifølge krav 5 eller krav 6 eller det ene eller de flere polynukleotidene ifølge krav 7 for anvendelse i en fremgangsmåte for å behandle sigdcelle sykdom, hvor fremgangsmåten omfatter:

15 å introdusere, inn i cellen, det ene eller de flere proteinene ifølge krav 5 eller krav 6 eller det ene eller de flere polynukleotidene ifølge krav 7, under betingelser slik at det ene eller de flere proteinene blir uttrykt og ekspresjonen av globingenet blir endret.