



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 2931891 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**C12N 15/00 (2006.01)**  
**C12N 9/22 (2006.01)**

**Norwegian Industrial Property Office**

---

(21) Translation Published 2019.10.14

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2019.05.15

(86) European Application Nr. 13863815.0

(86) European Filing Date 2013.12.16

(87) The European Application's Publication Date 2015.10.21

(30) Priority 2012.12.17, US, 201261738355 P  
2013.03.13, US, 201361779169 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 President and Fellows of Harvard College, 17 Quincy Street, Cambridge, MA 02138, USA

(72) Inventor CHURCH, George M., 218 Kent Street, Brookline, Massachusetts 02446, USA  
MALI, Prashant, 88 Beacon Street Apt. 54, Somerville, Massachusetts 02143, USA  
YANG, Luhan, 278 Beacon Street Apt.56, Somerville, Massachusetts 02143, USA

(74) Agent or Attorney BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

---

(54) Title **RNA-GUIDED HUMAN GENOME ENGINEERING**

(56) References Cited: WO-A1-2013/142578, WO-A1-2013/176772, WO-A1-2014/065596  
WO-A1-2014/089290, WO-A1-2014/093595, US-A1- 2010 076 057  
JINEK ET AL.: 'A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity.' SCIENCE vol. 337, no. 6096, 17 August 2012, pages 816 - 821, XP055229606  
RHO ET AL.: 'Diverse CRISPRs Evolving in Human Microbiomes.' PLOS GENETICS. vol. 8, no. 6, June 2012, pages 1 - 12, XP055255388  
HATOUM-ASLAN ET AL.: 'Mature clustered, regularly interspaced, short palindromic repeats RNA (crRNA) length is measured by a ruler mechanism anchored at the precursor processing site.' PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES vol. 108, no. 52, December 2011, pages 21218 - 21222, XP055250498  
JINEK ET AL.: 'RNA-programmed genome editing in human cells.' ELIFE vol. 2, 2013, page E00471., XP055245475 Retrieved from the Internet: <URL:http://:elife.elifesciences.org/content /2/e00471> [retrieved on 2014-03-06]

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. *In vitro* eller *ex vivo* fremgangsmåte for å endre en eukaryotisk celle omfattende  
5 å tilveiebringe den eukaryotiske celle guide-RNA-sekvensen GN<sub>19</sub>  
GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUG  
GCACCGAGUCGGUGCUUUU,  
hvor GN<sub>19</sub> sekvensen er komplementær til en målnukleinsyresekvens og binder seg til  
10 tilføre, til den eukaryote celle, et Cas 9-protein som interagerer med guide-RNA-  
sekvensen, og  
hvor fremgangsmåten ikke omfatter en prosess for å modifisere den genetiske  
identiteten til menneskers kimbane, og hvor cellen ikke er et menneskelig embryo.
- 15 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor Cas 9-proteinet er et Cas9-enzym og målnukleinsyresekvensen spaltes.
3. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 2, hvor cellen tilføres  
20 guide-RNA-sekvensen ved å introdusere en første nukleinsyre som koder for guide-  
RNA-sekvensen,  
hvor Cas 9-proteinet tilføres til cellen ved å introdusere for cellen en andre nukleinsyre  
som koder for Cas9-proteinet, og  
hvor cellen produserer guide-RNA og Cas9-proteinet.
- 25 4. Fremgangsmåte ifølge krav 3, hvor den første nukleinsyren blir introdusert i  
cellen ved å anvende en viral tilførselsmetode.
5. Fremgangsmåte ifølge krav 3, hvor den første og/eller andre nukleinsyren blir  
introdusert i cellen ved transfeksjon.
- 30 6. Fremgangsmåte ifølge krav 3, hvor den første nukleinsyren blir introdusert i  
cellen ved å anvende et adenoassosiert virus.
7. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor Cas9-proteinet  
35 er et Cas9-enzym, en Cas9 nickase, en nuklease-null Cas9, en modifisert Cas9 eller en  
homolog av Cas9.

8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor den eukaryotiske cellen er en gjær-celle, en plantecelle eller en pattedyr-celle.
- 5 9. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor cellen er en menneske-celle.
- 10 10. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvor flere guide-RNA-sekvenser som er komplementære til forskjellige målnukleinsyre-sekvenser tilføres til den eukaryote celle, hvor guide-RNA-sekvensen binder til den forskjellige målnukleinsyre-sekvensen, og hvor Cas 9-proteinet interagerer med de flere guide-RNA-sekvensene.
- 15 11. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor guide-RNA er en crRNA-tracrRNA-fusjon.
12. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 11, hvor Cas9-proteinet er humant kodon-optimalisert.
- 20 13. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 12, hvor guide-RNA-sekvenser som er komplementære til målnukleinsyre-sekvenser i en locus tilføres til cellen, hvor guide-RNA-sekvensene binder seg til målnukleinsyre-sekvensene og hvor Cas9-proteinet er et Cas9-enzym som spalter målnukleinsyre-sekvensene og en mellomliggende nukleinsyre-sekvens deleteres fra locusen.
- 25 14. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 13, hvor Cas9-proteinet er et Cas9-enzym som spalter målnukleinsyre-sekvensen og hvor en donor-nukleinsyre-sekvens tilført til den eukaryote cellen inserteres i målnukleinsyre-sekvensen.
- 30 15. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor Cas9-proteinet er nuklease-null og interagerer med guide-RNA-sekvensen og binder seg til målnukleinsyre-sekvensen, hvor Cas 9-proteinet har et FokI-nukleasedomene festet dertil, hvor en målnukleinsyre-sekvens spaltes ved FokI-nukleasedomene dimerisering av tilstøtende guide-RNA-sekvens og Cas9-protein ko-lokalisering-komplekser.
- 35 16. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor Cas9-proteinet er nuklease-null og inkluderer et transkripsjonelt aktiverings- eller represjonsdomene og hvor ekspresjon

av et målgen moduleres.

17. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor Cas9-proteinet er nuklease-null og inkluderer et fluorescerende protein og hvor det fluorescerende proteinet visualiseres.

5

18. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor Cas9-proteinet er nuklease-null og inkluderer en proteinbundet organisk fluorofor, en nukleinsyrebundet organisk fluorofor, et kvantepunkt, et molekylært merke, en ekkosonde eller et multivalent ligandbindende proteindomene.

10

19. RNA-guidet genom redigeringsystem som omfatter:

guide-RNA-sekvens GN<sub>19</sub>

GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGA

AAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU, hvor GN<sub>19</sub> sekvensen er komplementær til en

15

målnukleinsyresekvens og binder til målnukleinsyre-sekvensen; eller en første

nukleinsyresekvens som koder for guide-RNA-sekvensen; og

et Cas9-protein som interagerer med guide-RNA-sekvensen, eller en andre

nukleinsyresekvens som koder for Cas9-proteinet, hvor Cas9-proteinet inkluderer et

C-terminus SV40 nukleært lokaliseringssignal.

20

20. RNA-guidet genom redigeringsystem ifølge krav 19 for anvendelse i genterapi.

21. Eukaryotisk celle som inneholder det RNA-guidede genom redigeringsystemet ifølge krav 19, hvor cellen ikke er en kjønnselle fra menneske og er ikke et menneske embryo.

25