



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3068881 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/09 (2006.01)
A61K 35/12 (2015.01)
A61K 35/28 (2015.01)
A61K 38/46 (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C12N 9/22 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.07.08
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.02.27
(86)	European Application Nr.	14861930.7
(86)	European Filing Date	2014.11.13
(87)	The European Application's Publication Date	2016.09.21
(30)	Priority	2013.11.13, US, 201361903823 P 2014.08.26, US, 201462042075 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	Children's Medical Center Corporation, 55 Shattuck Street, Boston, MA 02115, USA Sangamo Therapeutics, Inc., Point Richmond Tech Center 501 Canal Blvd., Suite A100, Richmond, CA 94804, USA
(72)	Inventor	ORKIN, Stuart H., c/o Children's Medical Center Corporation 55 Shattuck Street, Boston, Massachusetts 02115, USA REIK, Andreas, c/o Sangamo BioSciences Inc. 501 Canal Blvd. Suite A100, Richmond, California 94804, USA URNOV, Fyodor, c/o Sangamo BioSciences Inc. 501 Canal Blvd. Suite A100, Richmond, California 94804, USA
(74)	Agent or Attorney	OSLO PATENTKONTOR AS, Postboks 7007 M, 0306 OSLO, Norge

(54) Title **NUCLEASE-MEDIATED REGULATION OF GENE EXPRESSION**

(56) References
Cited: WO-A1-2013/055985
 WO-A1-2013/126794
 WO-A1-2014/085593
 WO-A2-2014/036219

WO-A2-2016/183298

US-A1- 2003 104 526

US-A1- 2009 111 188

US-A1- 2013 177 960

US-A1- 2013 137 104

US-A1- 2011 027 235

Bauer: "Supplementary Materials Materials and Methods Supplementary Text Figs. S1-S9 Tables S1-S6 References (39-55) Materials and Methods Cell culture Human CD34 + cells from mobilized peripheral blood of healthy donors were obtained from Centers of Excellence in Molecular Hematology at", , 11 October 2013 (2013-10-11), XP055351735, Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4018826/bin/NIHMS575314-supplement-Supplementary_Material.pdf [retrieved on 2017-03-06]

XU JIAN ET AL: "Identification Of BC L11A Structure-Function Domains For Fetal Hemoglobin Silencing", BLOOD, vol. 122, no. 21, 15 November 2013 (2013-11-15), page 435, XP009193642, & 55TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; NEW ORLEANS, LA, USA; DECEMBER 07 -10, 2013

REIK ANDREAS ET AL: "Targeted Gene Modification In Hematopoietic Stem Cells: A Potential Treatment For Thalassemia and Sickle Cell Anemia", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 122, no. 21, 15 November 2013 (2013-11-15), page 434, XP009189204, ISSN: 0006-4971

BAUER ET AL.: 'An erythroid enhancer of BCL11A subject to genetic variation determines fetal hemoglobin level' SCIENCE vol. 342, 11 October 2013, pages 1 - 10, XP055203754

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. Genetisk modifisert celle omfattende en genomisk modifisering fremstilt av en sinkfingernuklease (ZFN) eller TAL-effector domene nuklease (TALEN), hvor den genomiske modifikasjon er innenfor hvilken som helst av nukleasemål-sekvensene av SEQ ID NOs: 4-80, 143- 184, 232-251 og 276 av en endogen BCL11a-enhancersekvens, og videre hvor den genomiske modifikasjon er en innsetting og / eller delesjon.
5
2. Genetisk modifisert celle ifølge krav 1, hvor cellen er en stamcelle, eventuelt hvor stamcellen er en hematopoietisk stamcelle, slik som en CD34+ hematopoietisk stamcelle.
10
3. Genetisk modifisert differensiert celle som stammer fra stamcellen ifølge krav 2, eventuelt hvor cellen er en rød blodcelle (RBC).
15
4. Genetisk modifiserte celle ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor:
 - a. nukleasen blir introdusert i cellen som et polynukleotid; og / eller
 - b. innsetting omfatter integrering av et donorpolygonukleotid som koder et transgen, eventuelt hvor:
20
 - i. ZFN omfatter et sinkfingerprotein, idet sinkfingerproteinet omfatter 4, 5 eller 6 sinkfingerdomener omfattende et gjenkjennelseshelixområde og videre hvor sinkfingerproteinet omfatter gjenkjennelseshelixområdene i rekkefølgen vist i en enkelt rad i tabell 3 eller tabell 6; eller
 - 25
 - ii. TALEN omfatter et TALE-protein, TALE-proteinet som omfatter flere TALE-repeterende enheter, hvor hver repeterende enhet omfattende en hypervariabel-direkt-område (RVD), hvor RVD-ene av TALE-repeterende enhetene er vist i en enkelt rad av Tabell 1, Tabell 2 eller Tabell 4.
30
5. Farmasøytisk sammensetning omfattende den genetisk modifiserte cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4.
6. DNA-bindende protein som omfatter et sinkfingerprotein eller et TALE-effectorprotein (TALE), hvor
35
 - i. sinkfingerproteinet omfatter 4, 5 eller 6 sinkfingerdomener omfattende et gjenkjennelseshelixområde, hvor

- sinkfingerproteinene omfatter gjenkjennelseshelixområder i rekkefølgen vist i en enkelt rad av Tabell 3 eller Tabell 6; og
- ii. TALE-proteinet omfatter flere TALE-repeterende enheter, idet hver repeterende enhet omfatter et hypervariabelt-direst-område (RVD), hvor RVD-ene av de TALE-repeterende enhetene er vist i en enkelt rad av Tabell 1, Tabell 2 eller Tabell 4.
- 5
7. Nuklease omfattende et sinkfingerprotein eller TALE-protein ifølge krav 6 og en villtype eller konstruert spaltningsdomene eller spaltnings-halvdomene.
- 10
8. Polynukleotid som koder for ett eller flere proteiner ifølge krav 6 eller nukleasen ifølge krav 7.
- 15
9. Isolert celle omfattende ett eller flere proteiner ifølge krav 6 eller krav 7 eller ett eller flere polynukleotider ifølge krav 8, eventuelt hvor cellen er en hematopoietisk stamcelle.
10. Kit omfattende minst ett av: i) et polynukleotid som koder for proteinet ifølge krav 6 eller krav 7 eller ii) et protein ifølge krav 6 eller krav 7.
- 20
11. *In vitro*-fremgangsmåte for å endre globin-genuttrykk i en celle, hvor fremgangsmåten omfatter:
- innføring i cellen av enn eller flere polynukleotider ifølge krav 8 under betingelser slik som at det ene eller flere proteiner uttrykkes og ekspresjon av globin-genet blir endret, eventuelt hvor ekspresjon av globin-genet økes og / eller globin-genet er et gamma-globin- eller beta-globin-gen.
- 25
12. Fremgangsmåte ifølge krav 11, som videre omfatter integrering av en donorsekvens i cellens genom, eventuelt hvor:
- 30
- a. donorsekvensen blir introdusert til cellen ved bruk av en viral vektor, som et oligonukleotid eller på et plasmid;
- b. cellen er valgt fra gruppen bestående av en rød blodcelle (RBC) forløpercelle og en hematopoietisk stamcelle; og / eller
- 35
- c. donorsekvensen omfatter et transgen under kontroll av en endogen eller eksogen promotor.

13. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 5 for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling eller forebygging av en hemoglobinopati hos en pasient som trenger en økning i globin-genekspresjon, idet fremgangsmåten omfatter å administrere den farmasøytiske sammensetningen til pasienten i en
5 mengde som er tilstrekkelig til å øke globin-gen ekspresjon i pasienten, eventuelt hvor hemoglobinopati er en thalassemi eller sigdcelle-sykdom som β -thalassemi.
14. Fremgangsmåte ifølge krav 11 eller farmasøytisk sammensetning for anvendelse ifølge krav 13, hvor globin-genekspresjon er nivået av globin-mRNA
10 eller globinprotein produsert.
15. En eller flere nukleaser ifølge krav 7, eller en nukleinsyre som koder for en eller flere nukleaser som binder til en målsekvens av et hvilket som helst av SEQ ID NO: 4-80, 143-184, 232-251 og 276, for anvendelse ved behandling eller
15 forebygging av en hemoglobinopati, hvor nukleasen bruker som mål en BCL11A-forsterkersekvens i en celle hvor den ene eller flere nukleasen er en ZFN eller TALEN.