



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3071698 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/64 (2006.01)
C07H 21/02 (2006.01)
C12N 15/10 (2006.01)
C12N 15/90 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.12.09
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.09.04
(86)	European Application Nr.	14864325.7
(86)	European Filing Date	2014.11.19
(87)	The European Application's Publication Date	2016.09.28
(30)	Priority	2013.11.19, US, 201361906188 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	BYRNE, Susan M., 9 Sewall Avenue, Brookline, Massachusetts 02446, USA CHURCH, George M., 218 Kent Street, Brookline, Massachusetts 02446, USA
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	LARGE GENE EXCISION AND INSERTION
(56)	References Cited:	WO-A1-2013/169802 US-A1- 2012 315 670 WO-A1-2013/142578 WO-A2-2014/165825 WO-A1-2015/088643 P. MALI ET AL: "RNA-Guided Human Genome Engineering via Cas9", SCIENCE, vol. 339, no. 6121, 15 February 2013 (2013-02-15), pages 823-826, XP055337932, ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.1232033 GENNEQUIN BENJAMIN ET AL: "CRISPR/Cas-induced double-strand breaks boost the frequency of gene replacements for humanizing the mouseCnr2gene", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 441, no. 4, 6 November 2013 (2013-11-06), pages 815-819, XP028787949, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2013.10.138 F. ANN RAN ET AL: "Double Nicking by RNA-Guided CRISPR Cas9 for Enhanced Genome Editing Specificity", CELL, vol. 154, no. 6, 1 September 2013 (2013-09-01), pages 1380-1389,

XP055299681, US ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/j.cell.2013.08.021

S. M. BYRNE ET AL: "Multi-kilobase homozygous targeted gene replacement in human induced pluripotent stem cells", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 43, no. 3, 20 November 2014 (2014-11-20), pages e21-e21, XP055269326, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gku1246

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 å endre en målnukleinsyre i en celle omfattende
 - å innføre inn i cellen én eller flere første fremmede nukleinsyrer som koder for
 - 5 to eller flere guide-RNA-sekvenser komplementære til DNA, hvor DNA-et inkluderer målnukleinsyren,
 - å innføre inn i cellen en andre fremmed nukleinsyre som koder for et Cas9-protein som binder til DNA-et og blir ledet av de to eller flere guide-RNA-sekvensene,
 - 10 å innføre inn i cellen en eksogen nukleinsyresekvens som skal inkluderes inn i målnukleinsyresekvensen,
 - hvor de to eller flere guide-RNA-sekvensene og Cas9-proteinet er uttrykt,
 - hvor de to eller flere guide-RNA-sekvensene og Cas9-proteinet samlokaliseres til DNA-et, og hvor Cas9-proteinet skaper to eller flere dobbeltstrengede brudd
 - 15 for å fjerne en første nukleinsyresekvens av interesse, og hvor den eksogene nukleinsyresekvensen er satt inn mellom to bruddpunkter i målnukleinsyren,
 - hvor den første nukleinsyresekvensen av interesse og den eksogene nukleinsyresekvensen er større enn 1000 basepar i lengde, og
 - hvor den eksogene nukleinsyresekvensen som skal inkluderes inn i målnukleinsyresekvensen er flankert av sekvenser som er komplementære til regionen
 - 20 rundt den første nukleinsyresekvensen av interesse.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den eksogene nukleinsyren er mellom mer enn 1000 basepar og omtrent 100 000 basepar i lengde.
- 25 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den første nukleinsyresekvensen av interesse er mellom mer enn 1000 basepar og omtrent 10.000 basepar i lengde.
4. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor cellen er en eukaryotisk celle.
- 30 5. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor cellen er en gjærceelle, en plantecelle eller en dyrecelle.
6. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor de to eller flere guide-RNA-ene er mellom 35 omtrent 10 og omtrent 500 nukleotider.

7. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor de to eller flere guide-RNA-ene er mellom omtrent 20 og omtrent 100 nukleotider.
- 5 8. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor de to eller flere guide-RNA-sekvensene er crRNA-er.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor de to eller flere guide-RNA-sekvensene er tracrRNA-crRNA-fusjoner.
- 10 10. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor DNA er genomisk DNA, mitokondrielt DNA, viralt DNA, eller eksogent DNA.
11. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den eksogene nukleinsyresekvensen settes inn i målnukleinsyresekvensen ved homolog rekombinasjon.
- 15 12. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den eksogene nukleinsyresekvensen settes inn i målnukleinsyresekvensen ved ikke-homolog endeforbindelse.
13. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor cellen er en menneskelig celle.
- 20 14. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor cellen er en menneskelig induisert pluripotent stamcelle.