



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 3105328 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**C12N 15/11 (2006.01) C40B 20/04 (2006.01)**  
**A01N 63/00 (2020.01) C40B 30/04 (2006.01)**  
**C12N 15/00 (2006.01) C40B 40/08 (2006.01)**  
**C12N 15/86 (2006.01)**

## Norwegian Industrial Property Office

---

(45) Translation Published 2020.08.17  
(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2020.04.08  
(86) European Application Nr. 15749644.9  
(86) European Filing Date 2015.02.11  
(87) The European Application's Publication Date 2016.12.21  
(30) Priority 2014.02.11, US, 201461938608 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 The Regents of the University of Colorado, a body corporate, 1800 Grant Street, 8th Floor, Denver, CO 80203, USA  
(72) Inventor GILL, Ryan, T., 2025 Ash Street, Denver, CO 80227, USA  
GARST, Andrew, 5505 Valmont Road 1, Boulder, CO 80301, USA  
(74) Agent or Attorney BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

---

(54) Title **CRISPR ENABLED MULTIPLEXED GENOME ENGINEERING**

(56) References Cited: WO-A1-2013/176772  
M. JINEK ET AL: "A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity", SCIENCE, vol. 337, no. 6096, 17 August 2012 (2012-08-17), pages 816-821, XP055299674, ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.1225829  
JIANG ET AL.: 'RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems.' NATURE BIOTECHNOLOGY vol. 31, no. 3, March 2013, ISSN 1087-0156 pages 233 - 239, XP002744124  
BIKARD ET AL.: 'CRISPR interference can prevent natural transformation and virulence acquisition during in vivo bacterial infection.' CELL HOST & MICROBE vol. 12, no. 2, 16 August 2012, ISSN 1931-3128 pages 177 - 186, XP028934538  
PINES GUR ET AL: "Codon Compression Algorithms for Saturation Mutagenesis", 10 October 2014 (2014-10-10), ACS SYNTHETIC BIOLOGY, VOL. 4, NR. 5, PAGE(S) 604-614, XP002771109, ISSN: 2161-5063(print) \* page 608, column 2, paragraph 3 - page 609, column 1, paragraph 1; figure 5 \* \* page 613, column 1, line 3 - page 613, column 2, line 2 \*

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. Syntetisert kassett omfattende:

- (i) minst en redigeringskassett omfattende (a) en region som er homolog med en målregion av en nukleinsyre i en celle, (b) en mutasjon av minst ett nukleotid i forhold til nevnte målregion, og (c) et mutert protospacerilstøtende motiv (PAM) som ikke gjenkjennes av et CRISPR-system; og
- (ii) en nukleinsyre som koder for et guide-RNA (gRNA) omfattende (a) en region som er komplementær til en del av målregionen, og (b) en region som rekrutterer en endonuklease.

2. Syntetisert kassett ifølge krav 1, hvor nevnte redigeringskassett tjener som en transstrekkode for senere sekvensering.

3. Syntetisert kassett ifølge krav 1 eller krav 2, hvor målregionen er innenfor en ikke-kodende region.

4. Syntetisert kassett ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvor målregionen er inne i et gen av interesse inne i cellen.

5. Syntetisert kassett ifølge krav 4, hvor mutasjonen av minst ett nukleotid er inne i minst ett kodon av genet av interesse.

6. Syntetisert kassett ifølge krav 4 eller krav 5, hvor det muterte PAM-et omfatter en mutasjon som er utenfor en leseramme av genet av interesse.

7. Syntetisert kassett ifølge et hvilket som helst av kravene 4-6, hvor genet av interesse er et prokaryot gen.

8. Syntetisert kassett ifølge et hvilket som helst av kravene 4-6, hvor genet av interesse er et eukaryot gen.

9. Syntetisert kassett ifølge hvilket som helst av kravene 1-8, hvor endonukleasen er en Cas9-nuklease.

10. Syntetisert kassett ifølge hvilket som helst av kravene 1-9, videre omfattende en promotor.

5        11. Syntetisert kassett ifølge krav 1, hvor det muterte PAM-et omfatter en insersjonsmutasjon.

12. Syntetisert kassett ifølge krav 1, hvor det muterte PAM-et omfatter en delesjonsmutasjon.

10      13. Syntetisert kassett ifølge krav 1, hvor det muterte PAM-et omfatter en substitusjonsmutasjon.