



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3234134 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/113 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45) Translation Published 2020.09.21

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2020.05.27

(86) European Application Nr. 15813826.3

(86) European Filing Date 2015.12.17

(87) The European Application's Publication Date 2017.10.25

(30) Priority 2014.12.17, GB, 201422511
2015.07.16, GB, 201512467
2015.07.17, GB, 201512595
2015.12.14, GB, 201521987

(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 ProQR Therapeutics II B.V., Zernikedreef 9, 2333 CK Leiden, Nederland

(72) Inventor KLEIN, Bart, ProQR Therapeutics II B.V.Darwinweg 24, 2333 CR Leiden, Nederland
PLATENBURG, Gerardus Johannes, ProQR Therapeutics II B.V.Darwinweg 24, 2333 CR Leiden, Nederland

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

(54) Title **TARGETED RNA EDITING**

(56) References

Cited:

WO-A1-2014/011053

WO-A1-2017/050306

EP-A1- 3 323 890

M. F. MONTIEL-GONZALEZ ET AL: "Correction of mutations within the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator by site-directed RNA editing", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 110, no. 45, 9 October 2013 (2013-10-09), pages 18285-18290, XP055260494, US ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1306243110 cited in the application

M. F. SCHNEIDER ET AL: "Optimal guideRNAs for re-directing deaminase activity of hADAR1 and hADAR2 in trans", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 42, no. 10, 17 April 2014 (2014-04-17), pages e87-e87, XP055260764, GB ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gku272

GRÉGOIRE MASLIAH ET AL: "RNA recognition by double-stranded RNA binding domains: a matter of shape and sequence", CMLS CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES., 24 August 2012 (2012-08-24), XP055260674, DE ISSN: 1420-682X, DOI: 10.1007/s00018-012-1119-x

M. HALLEGGER ET AL: "RNA aptamers binding the double-stranded RNA-binding domain",
RNA, vol. 12, no. 11, 27 September 2006 (2006-09-27), pages 1993-2004, XP055260667, US
ISSN: 1355-8382, DOI: 10.1261/rna.125506

BIN TIAN ET AL: "The double-stranded-RNA-binding motif: interference and much more",
NATURE REVIEWS MOLECULAR CELL BIOLOGY, vol. 5, no. 12, 1 December 2004 (2004-12-
01), pages 1013-1023, XP055260670, GB ISSN: 1471-0072, DOI: 10.1038/nrm1528

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. Oligonukleotidkonstrukt for den stedstyrte redigeringen av et nukleotid i en mål-RNA-sekvens i en eukaryotisk celle, hvor oligonukleotidkonstruktet er omfattende:
 - (a) en målrettingsdel, omfattende en antisense-sekvens som er komplementær med
5 en del av mål-RNA-et; og
 - (b) en rekrutteringsdel som er: i stand til å danne en intramolekylær stamløkkestruktur; i stand til å binde og rekruttere et RNA-redigeringsenzym naturlig til stede i cellen; og i stand til å utføre redigeringen av nukleotidet.

- 10 2. Oligonukleotidkonstrukt ifølge krav 1, hvori rekrutteringsdelen omfatter en sekvens avledet fra en hvilken som helst av de følgende gruppene:
 - (i) en RNA-sekvens som koder for GluR-B (R/G)-stedet;
 - (ii) en RNA-sekvens som koder for RNA-redigeringsenzymbindingsdomenet til GluR-C, GluR-D eller en 5-HT_{2c}- serotoninreseptoren;
 - 15 (iii) en RNA- eller DNA-stamløkkestruktur omfattende sekvensen (RY eller YR)_nN_m(RY eller YR)_n, hvori R er adenosin eller guanosin, Y er uridin eller cytidin, N er adenosin, guanosin, cytidin, uridin eller inosin, n er 3 eller mer, m er 4 eller mer, og hvori N danner en løkke og de to (RY)_n- eller (YR)_n-sekvensene danner en dobbeltstrenget stamstruktur gjennom komplementær baseparring;
 - 20 (iv) en DNA-stamløkkestruktur omfattende sekvensen (CG)₃N¹-Nⁿ(CG)₃, hvori hver av N¹ til Nⁿ kan være den samme eller forskjellig og valgt fra guanosin, adenosin, tymidin, cytidin og inosin, og 'n' er mellom 2 og 20;
 - (v) en pentanukleotidsløkke som har sekvensen: GCUMA, hvori G er guanosin, C er cytidin, M er adenosin eller cytidin og U er uridin; og
 - 25 (vi) en aptamer valgt for binding til RNA-redigeringsenzymet.

3. Oligonukleotidkonstruktet ifølge krav 1 eller 2, hvori rekrutteringsdelen ikke er komplementær med mål-RNA-et.

- 30 4. Oligonukleotidkonstruktet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori målrettingsdelen omfatter et ikke-komplementært nukleotid i en stilling motstående nukleotidet som skal redigeres i mål-RNA-et og hvori det ikke-komplementære nukleotidet er et cytidin eller et uridin, fortrinnsvis et cytidin.

5. Oligonukleotidkonstruktet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori nukleotidet som er målet for redigering er et adenosin.
6. Oligonukleotidkonstruktet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori redigeringsenzymet har hADAR1- eller hADAR2-aktivitet.
7. Oligonukleotidkonstruktet ifølge krav 1, hvori rekrutteringsdelen omfatter en sekvens valgt fra SEQ ID NO: 6, 7, 20, 21, 22, 23 og 24.
8. Oligonukleotidkonstruktet ifølge krav 1, hvori rekrutteringsdelen omfatter nukleotidsekvensen:
5'-(AUAN^a)_nUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUA(N^bUAU)_n-3' hvori N^a og N^b er hver enkle nukleotider som kan være A, G, C eller U, under forutsetning av at N^a og N^b danner et feilsamsvarbasepar ved dannelsen av en stamløkkestruktur, og n er 1 eller 0.
9. Oligonukleotidkonstruktet ifølge krav 8, hvori rekrutteringsdelen omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO: 23, 24 eller 25.
10. Oligonukleotidkonstruktet ifølge krav 1, hvori rekrutteringsdelen omfatter en deoksyoligonukleotidsekvens omfattende sekvensen (CG)₃T₄(CG)₃ (SEQ ID NO: 5), hvori C er cytidin, G er guanosin og T er tymidin.
11. Oligonukleotidkonstruktet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvori ett eller flere av nukleotidene omfatter en kjemisk modifisering.
12. Oligonukleotidkonstruktet ifølge krav 11, hvori alle uridinene motstående adenosiner i mål-RNA-sekvensen som ikke er et mål for redigering, er 2'-metoksy-(2'-OMe)-uridin.
13. Oligonukleotidkonstruktet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 12, hvori lengden av oligonukleotidet er mellom 20 og 100 nukleotider, fortrinnsvis mellom 24 og 60 nukleotider, mer foretrukket mellom 30 og 50 nukleotider.
14. Oligonukleotidkonstruktet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 13 for anvendelse i den stedstyrte redigeringen av et nukleotid i et mål-RNA i en eukaryot, fortrinnsvis en

pattedyrceelle, mer foretrukket en menneskeceelle, gjennom virkningen av et RNA-redigerende enzym naturlig til stede i cellen og i stand til å utføre redigeringen av nukleotidet.