



(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/113 (2010.01)
C12N 9/22 (2006.01)
C12N 15/10 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.07.06
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.02.12
(86)	European Application Nr.	18186003.2
(86)	European Filing Date	2016.06.17
(87)	The European Application's Publication Date	2019.04.17
(30)	Priority	2016.01.07, EP, 16150428 2015.06.18, US, 201562181739 P 2015.07.16, US, 201562193507 P 2015.08.05, US, 201562201542 P 2015.08.16, US, 201562205733 P 2015.09.24, US, 201562232067 P 2015.12.18, US, 201514975085
(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
(62)	Divided application	EP3310917, 2016.06.17
(73)	Proprietor	The Broad Institute, Inc., 415 Main Street, Cambridge, MA 02142, USA Massachusetts Institute Of Technology, 77 Massachusetts Avenue, Cambridge, MA 02139, USA President and Fellows of Harvard College, 17 Quincy Street, Cambridge, MA 02138, USA
(72)	Inventor	Zhang, Feng, 100 Pacific Street Apt 11, Cambridge, MA MA 02139, USA Zetsche, Bernd, 383 Washington Street, Gloucester, MA MA 01930, USA Gootenberg, Jonathan, S., 303 Third Street Apt 510, Cambridge, MA MA 02142, USA Abudayyeh, Omar, O., 49 Bristol St unit 2, Cambridge, MA MA 02141, USA Slaymaker, Ian, 1783 Massachusetts Ave. Apt 1, Cambridge, MA MA 02140, USA
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54) Title **NOVEL CRISPR ENZYMES AND SYSTEMS**

(56) References

Cited:

WO-A2-2015/089419

KIRA S. MAKAROVA ET AL: "An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems", NATURE REVIEWS. MICROBIOLOGY, vol. 13, no. 11, 28 September 2015 (2015-09-28), pages 722-736, XP055271841, GB ISSN: 1740-1526, DOI: 10.1038/nrmicro3569

Haft, D.H.: "HMM Summary Page: TIGR04330", , 17 May 2012 (2012-05-17), XP002757584, Retrieved from the Internet: URL:<http://www.jcvi.org/cgi-bin/tigrfams/HmmReportPage.cgi?acc=TIGR04330>

BERND ZETSCHE ET AL: "Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System", CELL, vol. 163, no. 3, 25 September 2015 (2015-09-25), pages 759-771, XP055267511, US ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/j.cell.2015.09.038

GISLE VESTERGAARD ET AL: "CRISPR adaptive immune systems of Archaea", RNA BIOLOGY, vol. 11, no. 2, 14 February 2014 (2014-02-14), pages 156-167, XP055271855, US ISSN: 1547-6286, DOI: 10.4161/rna.27990

EVA SCHUNDER ET AL: "First indication for a functional CRISPR/Cas system in *Francisella tularensis*", INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY, vol. 303, no. 2, 1 March 2013 (2013-03-01) , pages 51-60, XP055271835, DE ISSN: 1438-4221, DOI: 10.1016/j.ijmm.2012.11.004

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. Et konstruert, ikke-naturlig forekommende system som omfatter

5 a) et Cpf1 effektorprotein, eller en eller flere nukleotidsekvenser som koder for det Cpf1 effektorprotein, og

b) i det minste et konstruert guide-polynukleotid som er designet for å danne et kompleks med det Cpf1 effektorprotein og som omfatter en guide-sekvens, hvor guide-sekvensen er designet for å hybridisere med en målsekvens i en eukaryotisk
10 celle, eller en eller flere nukleotidsekvenser som koder for i det minste en konstruert guide-polynukleotid;

hvor systemet mangler en tracr-sekvens.

2. Det konstruerte, ikke-naturlig forekommende system ifølge krav 1, som omfatter

15 a) det Cpf1 effektorprotein, og

b) det i det minste ene konstruerte guide-polynukleotidet som er designet for å danne et kompleks med det Cpf1 effektorprotein og som omfatter en guide-sekvens, hvor guide-sekvensen er designet for å hybridisere med en målsekvens i en eukaryotisk celle.

3. Det konstruerte, ikke-naturlig forekommende system ifølge krav 1, som omfatter

a) den ene eller de flere nukleotidsekvensene som koder for et Cpf1 effektorprotein, og

b) en eller flere nukleotidsekvenser som koder for i det minste et konstruert guide-polynukleotid som er designet for å danne et kompleks med det Cpf1
25 effektorprotein og som omfatter en guide-sekvens, hvor guide-sekvensen er designet for å hybridisere med en målsekvens i en eukaryotisk celle.

4. Et konstruert, ikke-naturlig forekommende vektorsystem som omfatter en eller flere
30 vektorer som omfatter

a) et første regulerende element som er operabelt koblet til en eller flere nukleotidsekvenser som koder for et Cpf1 effektorprotein;

b) et andre regulerende element som er operabelt koblet til en eller flere nukleotidsekvenser som koder for i det minste et konstruert guide-polynukleotid som er designet for å danne et kompleks med det Cpf1 effektorprotein og som
35 omfatter en guide-sekvens, hvor guide-sekvensen er designet for å hybridisere med en målsekvens i en eukaryotisk celle; og

hvor systemet mangler en tracr-sekvens, og hvor komponentene (a) og (b) er lokalisert på de samme eller på forskjellige vektorer av systemet.

5. System ifølge krav 1, som omfatter i det minste et konstruert guide-polynukleotid eller en eller flere nukleotidsekvenser som koder for i det minste et konstruert guide-polynukleotid.

5

6. System ifølge krav 1, som omfatter en eller flere nukleotidsekvenser som koder for det Cpf1 effektorproteinet.

7. System ifølge krav 1, 2, 3 eller 4, hvor komplekset av det i det minste ene konstruerte guide-nukleotid og det Cpf1 effektorproteinet forårsaker spaltning, distalt av målsekvensen, eventuelt hvor nevnte spaltning genererer et forskjøvet dobbeltstrengt brudd med en 4- eller 5-nt 5' overheng.

10

8. System ifølge krav 1, 2, 3 eller 4, hvor:

15

- nevnte målsekvens er 3' av et Protospacer Adjacent Motif (PAM) og PAM omfatter et 5' T-rich motif; eller

- nevnte målsekvens er 3' av et Protospacer Adjacent Motif (PAM) og PAM-sekvensen er TTN, hvor N er A/C/G eller T og det Cpf1 effektorproteinet er FnCpf1, eller den PAM sekvensen er TTTV, hvor V er A/C eller G og det Cpf1

20

effektorproteinet er PaCpf1p, LbCpf1 eller AsCpf1.

9. System ifølge krav 1, 2, 3 eller 4, hvor det Cpf1 effektorproteinet er av en bakterieart som er oppført på fig. 64A eller fig. 64B, eventuelt hvor bakteriearten er en bakterieart som er valgt fra gruppen bestående av *Francisella tularensis* 1, *Prevotella albensis*, *Lachnospiraceae* bacterium MC2017 1, *Butyrivibrio proteoclasticus*, *Peregrinibacteria* bacterium GW2011_GWA2_33_10, *Parcubacteria* bacterium GW2011_GWC2_44_17, *Smithella* sp. SCADC, *Acidaminococcus* sp. BV3L6, *Lachnospiraceae* bacterium MA2020, *Candidatus Methanoplasma termitum*, *Eubacterium eligens*, *Moraxella bovoculi* 237, *Leptospira inadai*, *Lachnospiraceae* bacterium ND2006, *Porphyromonas crevioricanis* 3, *Prevotella disiens* og *Porphyromonas macacae*.

25

30

10. System ifølge krav 1, 3 eller 4, hvor:

- den ene eller de flere nukleotidsekvensene som koder for det Cpf1 effektorproteinet er kodonoptimalisert for ekspresjon i en eukaryotisk celle; eller

35

- komponentene (a) og (b) er på en vektor.

11. System ifølge krav 1 eller 3, hvor den ene eller de flere nukleotidsekvensene av komponentene (a) og (b) er et enkelt nukleinsyremolekyl.

12. System ifølge krav 1, 2, 3 eller 4, hvor:

- den eukaryotiske cellen er en dyre- eller menneskecelle; eller
- den eukaryotiske cellen er en plantecelle; eller
- guide-sekvensen er koblet til en direkte gjenta sekvens; eller
- det komplekse, konstruerte guide-polynukleotidet eller det Cpf1 effektorproteinet er konjugert til i det minste en sukkerdel, eventuelt hvor sukkerdelen omfatter N-acetyl galactosamine (GalNAc) eller triantenner GalNAc; eller
- det konstruerte guide-polynukleotidet omfatter i det minste et modifisert nukleotid.

13. En leveringspartikkel som omfatter systemet ifølge krav 1, 2, 3 eller 4.

14. Leveringspartikkel ifølge krav 13, hvor:

- det Cpf1 effektorproteinet er kompleksert med det konstruerte guide-polynukleotidet; og / eller
- leveringspartikkelen omfatter videre en lipid, et sukker, et metall eller et protein.

15. En in vitro fremgangsmåte for å modifisere et lokus av interesse som har en målsekvens av en eukaryotisk celle, som omfatter å levere systemet ifølge krav 1, 2, 3 eller 4, til nevnte lokus av interesse, hvor guide-sekvensen hybridiserer med målsekvensen hvorved modifisering av lokus av interesse forekommer, hvor fremgangsmåten ikke er en fremgangsmåte for å modifisere den genetiske identiteten til kimbanen av mennesker, eller en prosess for å modifisere den genetiske identiteten av et dyr, som sannsynligvis vil føre til lidelse uten noen vesentlig medisinsk fordel for mennesker eller dyr, og hvor cellen ikke er et menneskelig embryo.

16. Fremgangsmåte ifølge krav 15, hvor lokus av interesse er innenfor en eukaryotisk celle, eventuelt hvor cellen er en dyrecelle, en menneskecelle eller en plantecelle.

17. Fremgangsmåte ifølge krav 16, hvor nevnte levering av systemet omfatter levering av en eller flere nukleotidsekvenser som koder for det Cpf1 effektorproteinet og en eller flere nukleotidsekvenser som koder for i det minste et konstruert guide-polynukleotid, eventuelt hvor den ene eller de flere nukleotidsekvensene er omfattet innenfor en eller flere vektorer eller innenfor en enkelt vektor.

18. Fremgangsmåte ifølge krav 16 eller 17, hvor systemet eller en komponent derav eller en eller flere nukleotidsekvensmolekyler blir levert via leveringspartikler, vesikler eller en eller flere virale vektorer, eventuelt hvor:

- leveringspartiklene omfatter en lipid, et sukker, et metall eller et protein, eller

- leveringsvesiklene omfatter eksosomer eller liposomer, eller
- den ene eller de flere virale vektorene omfatter en eller flere adenovirus, en eller flere lentivirus eller et eller flere adeno-assosierte virus.

5 19. System ifølge krav 1, 2, 3 eller 4 eller fremgangsmåten ifølge krav 16, hvor det Cpf1 effektorproteinet omfatter en eller flere nukleære lokaliseringssignaler.

20. Fremgangsmåte ifølge krav 16, hvor den eukaryote cellen omfatter en celle av en cellelinje eller en celle av en organisme og lokus av interesse inkluderer et genomisk
10 lokus av interesse, eventuelt hvor:

- den eukaryote cellen er in vitro, ex vivo eller in vivo; eller
- den eukaryote cellen omfatter en stamcelle eller stamcellelinje; eller
- lokus av interesse er innenfor et eukaryotisk DNA-molekyl in vitro.

15 21. Fremgangsmåte ifølge krav 16, hvor:

- den eukaryotiske cellen er en plantecelle, og fremgangsmåten omfatter å oppnå en plante som har en modifisert egenskap av interesse fra plantecellen; eller - den eukaryotiske cellen er en plantecelle, og fremgangsmåten omfatter å identifisere en egenskap av interesse i en plante som er oppnådd fra plantecellen, hvor
20 egenskapen av interesse er kodet av et gen av interesse, eventuelt videre omfattende å innføre det identifiserte genet av interesse i en plantecelle eller en plantecellelinje eller en plante-kimplasme og genererer derfra en plante som inneholder genet av interesse, fortrinnsvis hvor planten viser egenskapen av interesse.

25

22. Fremgangsmåte ifølge krav 15, hvor:

- modifiseringen omfatter et strengbrudd, eventuelt hvor strengbruddet omfatter et forskjøvet DNA dobbeltstrengt brudd med et 4- eller 5-nt 5' overheng, og eventuelt hvor modifiseringen omfatter integrering av en DNA-innsats i det
30 forskjøvne DNA dobbeltstrengete brudd ; eller
- fremgangsmåten inkluderer å legge til en kation.

23. En isolert eukaryotisk celle som omfatter systemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6, hvor den eukaryotiske cellen ikke er en menneskelig kjønnselle eller et
35 humant embryo.

24. Celle ifølge krav 23, hvor den eukaryotiske cellen:

- er en dyrecelle; eller
- er en menneskelig celle; eller

- omfatter en stamcelle eller stamcellelinje; eller
- er en plantecelle.