



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3478843 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/115 (2010.01)
A61K 31/7115 (2006.01)
C12N 15/11 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.11.15
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.08.04
(86)	European Application Nr.	17740201.3
(86)	European Filing Date	2017.06.30
(87)	The European Application's Publication Date	2019.05.08
(30)	Priority	2016.07.01, US, 201662357623 P 2016.12.21, US, 201662437592 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	Somalogic, Inc., 2945 Wilderness Place, Boulder, CO 80301, USA
(72)	Inventor	CARTER, Jeff, 2945 Wilderness Place, Boulder, Colorado 80301, USA GAWANDE, Bharat, 2247 Evening Star Lane, Lafayette, Colorado 80026, USA JANJIC, Nebojsa, 2945 Wilderness Place, Boulder, Colorado 80301, USA SCHNEIDER, Daniel, 2945 Wilderness Place, Boulder, Colorado 80301, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **OLIGONUCLEOTIDES COMPRISING MODIFIED NUCLEOSIDES**

(56) References
Cited: WO-A1-2016/069461, WO-A1-2015/077292, WO-A1-2015/048084, WO-A1-2011/129494,
WO-A1-2011/109642, WO-A1-2009/012410,
BHARAT N. GAWANDE ET AL: "Selection of DNA aptamers with two modified bases",
PROCEEDINGS NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES PNAS, vol. 114, no. 11, 6 March 2017
(2017-03-06), pages 2898-2903, XP055404300, US ISSN: 0027-8424, DOI:
10.1073/pnas.1615475114
EATON B E ET AL: "Post SELEX combinatorial optimization of aptamers", BIOORGANIC &
MEDICINAL CHEMISTRY, PERGAMON, GB, vol. 5, no. 6, 26 March 1998 (1998-03-26), pages
1087-1096, XP002985590, ISSN: 0968-0896, DOI: 10.1016/S0968-0896(97)00044-8
D. R. DAVIES ET AL: "Unique motifs and hydrophobic interactions shape the binding of modified
DNA ligands to protein targets", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF
SCIENCES, vol. 109, no. 49, 8 November 2012 (2012-11-08), pages 19971-19976,
XP055209049, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1213933109
Gwendolyn M. Stovall ET AL: "In Vitro Selection Using Modified or Unnatural Nucleotides" In:
"Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry", 26 March 2014 (2014-03-26), John Wiley & Sons,
Inc., Hoboken, NJ, USA, XP055210370, ISBN: 978-0-47-114270-6 pages 9.6.1-9.6.33, DOI:
10.1002/0471142700.nc0906s56, table 9.6.1

JONATHAN D. VAUGHT ET AL: "Expanding the Chemistry of DNA for in Vitro Selection", JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 132, no. 12, 4 March 2010 (2010-03-04), pages 4141-4151, XP055047152, ISSN: 0002-7863, DOI: 10.1021/ja908035g

VINITA GUPTA ET AL: "An evaluation of an aptamer for use as an affinity reagent with MS: PCSK9 as an example protein", BIOANALYSIS, vol. 8, no. 15, 11 July 2016 (2016-07-11), pages 1557-1564, XP055404302, London, UK ISSN: 1757-6180, DOI: 10.4155/bio-2016-0046

LARRY GOLD ET AL: "Aptamer-Based Multiplexed Proteomic Technology for Biomarker Discovery", PLOS ONE, vol. 5, no. 12, 7 December 2010 (2010-12-07), page e15004, XP055040606, DOI: 10.1371/journal.pone.0015004 -& Larry Gold ET AL: "Table S1. List of the 813 proteins measured in the current version of the assay and the subset of 614 proteins measured in the CKD study.", Supplementary information to: Aptamer-Based Multiplexed Proteomic Technology for Biomarker Discovery, XP055040606, 7 December 2010 (2010-12-07), XP055404875, Retrieved from the Internet: URL:<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0015004> [retrieved on 2017-09-07]

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/>

EP3478843

1

Patentkrav

- 5 **1.** Aptamer omfattende minst ett første 5-posisjons modifisert pyrimidin og minst ett andre 5-posisjons modifisert pyrimidin, hvori det første 5-posisjons modifiserte pyrimidinet og det andre 5-posisjons modifiserte pyrimidinet er forskjellige 5-posisjons modifiserte pyrimidiner;
hvori det første 5-posisjons modifiserte pyrimidinet er et 5-posisjons modifisert uridin og hvori det andre 5-posisjons modifiserte pyrimidinet er et 5-posisjons modifisert cytidin; eller
- 10 hvori det første 5-posisjons modifiserte pyrimidinet er et 5-posisjons modifisert cytidin og hvori det andre 5-posisjons modifiserte pyrimidinet er et 5-posisjons modifisert uridin;
hvori det 5-posisjons modifiserte uridinet omfatter en tyrosyldel i 5-posisjonen; og hvori det 5-posisjons modifiserte cytidinet omfatter en naftyldel i 5-
- 15 posisjonen.
- 2.** Aptameren ifølge krav 1, hvori det 5-posisjons modifiserte cytidinet er NapdC; og hvori det 5-posisjons modifiserte uridinet er et TyrU.
- 20 **3.** Aptameren ifølge krav 1, hvori minst ett første 5-posisjons modifisert pyrimidin er et NapdC og minst ett andre 5-posisjons modifisert pyrimidin er et TyrU.
- 25 **4.** Aptameren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori aptameren omfatter en region i 5'-enden av aptameren som er minst 10, minst 15, minst 20, minst 25 eller minst 30 nukleotider i lengde, eller 5 til 30, 10 til 30, 15 til 30, 5 til 20 eller 10 til 20 nukleotider i lengde, hvori regionen i 5'-enden av aptameren mangler 5-posisjons modifiserte pyrimidiner; og hvori aptameren omfatter en region i 3'-enden av aptameren som er minst 10, minst 15, minst
- 30 20, minst 25 eller minst 30 nukleotider i lengde, eller 5 til 30, 10 til 30, 15 til 30, 5 til 20 eller 10 til 20 nukleotider i lengde, hvori regionen i 3'-enden av aptameren mangler 5-posisjons modifiserte pyrimidiner.

EP3478843

2

- 5 **5.** Aptameren ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori aptameren er 20 til 100, eller 20 til 90, eller 20 til 80, eller 20 til 70, eller 20 til 60, eller 20 til 50, eller 30 til 100, eller 30 til 90, eller 30 til 80, eller 30 til 70, eller 30 til 60, eller 30 til 50, eller 40 til 100, eller 40 til 90, eller 40 til 80, eller 40 til 70, eller 40 til 60, eller 40 til 50 nukleotider i lengde.
- 10 **6.** Sammensetning omfattende et mangfold av aptamerer ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5.
- 15 **7.** Sammensetningen ifølge krav 6, hvori hver aptamer omfatter en tilfeldig region, hvor den tilfeldige regionen er 20 til 100, eller 20 til 90, eller 20 til 80, eller 20 til 70, eller 20 til 60, eller 20 til 50, eller 20 til 40, eller 30 til 100, eller 30 til 90, eller 30 til 70, eller 30 til 60, eller 30 til 50, eller 30 til 40 nukleotider i lengde.
- 20 **8.** Sammensetning omfattende en aptamer og et mål, hvori aptameren og målet er i stand til å danne et kompleks, og hvori aptameren er en aptamer ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5.
- 25 **9.** Sammensetning omfattende en første aptamer, en andre aptamer og et mål, hvori den første aptameren omfatter minst ett første 5-posisjons modifisert pyrimidin og minst ett andre 5-posisjons modifisert pyrimidin; hvori den andre aptameren omfatter minst et tredje 5-posisjons modifisert pyrimidin eller hvori den andre aptameren omfatter minst et tredje 5-posisjons modifisert pyrimidin og minst et fjerde 5-posisjons modifisert pyrimidin; og hvori den første aptameren, den andre aptameren og målet er i stand til å danne et trimerkompleks; og hvori det første 5-posisjons modifiserte pyrimidinet og det andre 5-posisjons modifiserte pyrimidinet er forskjellige 5-posisjons modifiserte pyrimidiner; og hvori den første aptameren er en aptamer ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5.
- 30

EP3478843

3

10. Sammensetningen ifølge krav 9, hvori målet er valgt fra et protein, et peptid, et karbohydrat, et lite molekyl, en celle og et vev.

11. Fremgangsmåte omfattende:

- 5 (a) å bringe en aptamer i stand til å binde seg til et målmolekyl i kontakt med en prøve;
- (b) å inkubere aptameren med prøven for å tillate at det dannes et aptamermålkompleks;
- (c) berikelse for aptamermålkomplekset i prøven og
- 10 (d) å detektere for nærværet av aptameren, aptamermålkomplekset eller målmolekylet, hvori deteksjonen av aptameren, aptamermålkomplekset eller målmolekylet indikerer at målmolekylet er til stede i prøven, og hvori mangelen på deteksjonen av aptameren, aptamermålkomplekset eller målmolekylet indikerer at målmolekylet ikke er til stede i prøven;
- 15 hvori aptameren er en aptamer ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5.

- 12.** Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvori fremgangsmåten omfatter minst ett ytterligere trinn valgt fra: tilsette et konkurrentmolekyl til prøven; fange aptamermålkomplekset på en fast støtte; og tilsette et konkurrentmolekyl og
- 20 fortynne prøven; hvori det minst ene ytterligere trinnet skjer etter trinn (a) eller trinn (b); hvori konkurrentmolekylet eventuelt er valgt fra et oligonukleotid, polydekstran, DNA, heparin og dNTP-er; hvori polydekstranet eventuelt er dekstransulfat; hvori DNA-et eventuelt er sildesæd-DNA eller laksesæd-DNA.

- 25 **13.** Fremgangsmåten ifølge krav 11 eller krav 12, hvori målmolekylet er valgt fra et protein, et peptid, et karbohydrat, et lite molekyl, en celle og et vev; og hvori prøven er valgt fra fullblod, leukocytter, mononukleære celler fra perifert blod, plasma, serum, oppspytt, pust, urin, sæd, spytt, meningialvæske, fostervann, kjertelvæske, lymfevæske, brystvorteaspirat, bronkialt aspirat,
- 30 leddvæske, leddaspirat, celler, et celleekstrakt, avføring, vev, en vevsbiopsi og cerebrospinalvæske.

14. Fremgangsmåte for å detektere et mål i en prøve omfattende

EP3478843

4

a) å bringe prøven i kontakt med en første aptamer for å danne en blanding, hvori den første aptameren er i stand til å binde seg til målet for å danne et første kompleks;

5 b) å inkubere blandingen under forhold som tillater at det første komplekset dannes;

c) å bringe blandingen i kontakt med en andre aptamer, hvori den andre aptameren er i stand til å binde det første komplekset for å danne et andre kompleks;

10 d) å inkubere blandingen under forhold som tillater at det andre komplekset dannes;

e) å detektere for nærværet eller fraværet av den første aptameren, den andre aptameren, målet, det første komplekset eller det andre komplekset i blandingen, hvori nærværet av den første aptameren, den andre aptameren, målet, det første komplekset eller det andre komplekset indikerer at målet er til stede i prøven;

15 hvori den første aptameren er en aptamer ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5;

20 hvori den andre aptameren omfatter minst et tredje 5-posisjons modifisert pyrimidin, eller hvori den andre aptameren omfatter minst et tredje 5-posisjons modifisert pyrimidin og minst et fjerde 5-posisjons modifisert pyrimidin; hvori den første aptameren, den andre aptameren og målet er i stand til å danne et trimerkompleks.

25 **15.** Fremgangsmåte for å identifisere én eller flere aptamerer i stand til å binde seg til et målmolekyl omfattende:

(a) å bringe et bibliotek av aptamerer i kontakt med målmolekylet for å danne en blanding, og tillate dannelsen av et aptamermålkomples, hvori aptamermålkompleset dannes når en aptamer har affinitet for målmolekylet;

30 (b) å fordele aptamermålkompleset fra resten av blandingen (eller berikelse for aptamermålkompleset);

(c) å dissosiere aptamermålkompleset; og

(d) å identifisere den ene eller flere aptamerene i stand til å binde seg til målmolekylet;

EP3478843

5

hvor i biblioteket av aptamerer er sammensetningen ifølge krav 6 eller krav 7.

16. Fremgangsmåten ifølge krav 15, hvor i biblioteket omfatter minst 1000 aptamerer, hvor i hver aptamer omfatter en annen nukleotidsekvens.