



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 3481838 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
*C07H 1/00 (2006.01)*  
*C07H 21/00 (2006.01)*  
*C12N 9/00 (2006.01)*

**Norwegian Industrial Property Office**

---

(45) Translation Published 2020.12.21

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2020.08.19

(86) European Application Nr. 17739936.7

(86) European Filing Date 2017.07.07

(87) The European Application's Publication Date 2019.05.15

(30) Priority 2016.07.11, GB, 201612011

(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

Designated Extension States: BA ; ME

(73) Proprietor GlaxoSmithKline Intellectual Property Development Limited, 980 Great West Road, BrentfordMiddlesex TW8 9GS, Storbritannia

(72) Inventor CRAMERI, Andreas, GlaxoSmithKlineGunnels Wood Road, StevenageHertfordshire SG1 2NY, Storbritannia  
HILL, Malcolm Leithhead, GlaxoSmithKlineGunnels Wood Road, StevenageHertfordshire SG1 2NY, Storbritannia  
LOVELOCK, Sarah Louise, c/o GlaxoSmithKlineGunnels Wood Road, StevenageHertfordshire SG1 2NY, Storbritannia  
SCHOBBER, Markus, GlaxoSmithKlineGunnels Wood Road, StevenageHertfordshire SG1 2NY, Storbritannia  
TEW, David Graham, GlaxoSmithKlineGunnels Wood Road, StevenageHertfordshire SG1 2NY, Storbritannia  
THOMAS, Pamela Joan, GlaxoSmithKlineGunnels Wood Road, StevenageHertfordshire SG1 2NY, Storbritannia

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

---

(54) Title **NOVEL PROCESSES FOR THE PRODUCTION OF OLIGONUCLEOTIDES**

(56) References  
Cited: WO-A1-2009/097673  
WO-A2-01/64864  
WO-A1-01/71037  
US-A- 6 004 826

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 fremstilling av et enkeltstrenget oligonukleotidprodukt med minst en modifisert nukleotidrest, hvor modifiseringen er valgt fra gruppen bestående av modifisering ved 2'-posisjonen til sukkerdelen, modifisering av nukleobasen og modifisering av ryggraden, og hvor produktet produseres i gram- eller kilogramskala, eller større, og/eller fremgangsmåten utføres i en 1 liter reaktor eller større, omfattende:

- a) å tilveiebringe et maloligonukleotid (I) som er komplementært til sekvensen til produktet, nevnte mal har egenskaper som gjør det mulig å skille den fra produktet;
- b) å tilveiebringe en samling av oligonukleotider (II) inneholdende oligonukleotider som er segmenter av produktsekvensen, hvor minst ett segment inneholder minst én modifisert nukleotidrest og hvor modifikasjonen er valgt fra gruppen bestående av modifikasjon ved 2'-posisjonen til sukkerdelen, modifisering av nukleobasen, og modifisering av ryggraden;
- c) å kontakte (I) og (II) under forhold for å tillate hybridisering;
- d) å sammenføye segmentoligonukleotidene ved enzymatisk liggering med en ligase for å fremstille produktet;
- e) å endre betingelsene for å skille urenheter, omfattende å denaturere den hybridiserte malen og urenhetsoligonukleotidstrenger og å separere urenheterne;
- f) å endre betingelsene for å skille produktet, omfattende å denaturere den hybridiserte malen og produktoligonukleotidstrenger og å separere produktet; og
- g) å resirkulere malen for anvendelse i fremtidige reaksjoner.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvorved denatureringen skyldes en temperaturøkning, endring av pH-en, eller endring av saltkonsentrasjonen i en bufferløsning.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, omfattende to trinn for å øke temperaturen: i) å denaturere hybridiserte urenheter og ii) å denaturere hybridisert produkt.

4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvor segmentene er 3 til 15 nukleotider lange.

5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor produktet er 10 til 200 nukleotider langt, eventuelt 20 til 30 nukleotider langt, eventuelt 20 til 25 nukleotider langt.
- 5 6. Fremgangsmåte ifølge krav 5, hvor nevnte produkt er 20 nukleotider langt, nevnte produkt omfatter tre segmentoligonukleotider:
- (i) et 5'-segment som er 7 nukleotider langt, et sentralt segment som er 6 nukleotider langt og et 3'-segment som er 7 nukleotider langt;
  - (ii) et 5'-segment som er 6 nukleotider langt, et sentralt segment som er 8
  - 10 nukleotider langt og et 3'-segment som er 6 nukleotider langt; eller
  - (iii) et 5'-segment som er 5 nukleotider langt, et sentralt segment som er 10 nukleotider langt og et 3'-segment som er 5 nukleotider langt.
7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor egenskapen som gjør det mulig å skille malen fra produktet er at malen er festet til et støttemateriale.
- 15
8. Fremgangsmåte ifølge krav 7, hvor støttematerialet er et løselig støttemateriale, eventuelt hvor støttematerialet er valgt fra gruppen bestående av polyetylenglykol, en løselig organisk polymer, DNA, et protein, en dendrimer, et polysakkarid, et
- 20 oligosakkarid, og et karbohydrat.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 7, hvor støttematerialet er et uløselig støttemateriale, eventuelt hvor støttematerialet er valgt fra gruppen bestående av: en glassperle, en polymerperle, en fiberholdig støtte, en membran, en streptavidinbelagt perle, cellulose
- 25 eller er en del av selve reaksjonskaret, f.eks. en reaksjonsvegg.
10. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 7-9, hvor flere, gjentatte kopier av malen er festet på en kontinuerlig måte *via* et enkelt festepunkt til
- 30 støttematerialet.
11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, hvor egenskapen som tillater at malen skilles fra produktet er molekylvekten til malen.
- 35 12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor reaksjonen utføres ved anvendelse av en kontinuerlig eller halvkontinuerlig

strømningsprosess.

13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor modifikasjonen er ved 2'-posisjonen til sukkerdelen og er valgt fra gruppen bestående  
5 av 2'-F, 2'-OMe, 2'-MOE, og 2'-amino, eller hvor oligonukleotidet omfatter en PMO, en LNA, en PNA, en BNA eller en SPIEGELMER.

14. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor modifikasjonen er i nukleobasen og er valgt fra gruppen bestående av et 5-  
10 metylpyrimidin, et 7-deazaguanosin og et abasisk nukleotid.

15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor modifikasjonen er i ryggraden og er valgt fra gruppen bestående av fosfortioat, fosforamidat og fosfordiamidat.  
15

16. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor det resulterende produktet er minst 90% rent, eventuelt hvor produktet er minst 95% rent, eventuelt hvor produktet er minst 98% rent.

17. Fremgangsmåte for fremstilling av et dobbeltstrenget oligonukleotidprodukt, hvor 2 komplementære enkeltstrengede oligonukleotider produseres ved fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av de foregående krav og deretter blandes under betingelser for å tillate hybridisering.  
20

18. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor fremgangsmåten er for å produsere et terapeutisk oligonukleotid.  
25

19. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-16 eller 18, hvor oligonukleotidproduktet er en gapmer.  
30