



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3494997 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 48/00 (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C12N 15/90 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.02.03
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.09.18
(86)	European Application Nr.	18200462.2
(86)	European Filing Date	2013.07.21
(87)	The European Application's Publication Date	2019.06.12
(30)	Priority	2012.07.25, US, 201261675778 P 2012.11.01, US, 201261721283 P 2012.12.12, US, 201261736465 P 2013.03.15, US, 201361794458 P 2013.06.17, US, 201361835973 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 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, 91 Sidney StreetApt. 801, Cambridge, MA 02139, USA BRIGHAM, Mark, 5 Maine TerraceApt. 3, Somerville, MA 02145, USA CONG, Le, 100 Memorial Dr.Apt 8-21B, Cambridge, MA 02142, USA KONERMANN, Silvana, Foerrlibuckstrasse 226, 8005 Zürich, Sveits SANJANA, Neville Espi, 2a Union Terrace, Cambridge, MA 02142, USA
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Title	INDUCIBLE DNA BINDING PROTEINS AND GENOME PERTURBATION TOOLS AND APPLICATIONS THEREOF
------	-------	--

(56)	References Cited:	WO-A1-2014/089290 WO-A1-2014/065596 WO-A1-2013/142578
------	-------------------	---

US-A1- 2010 076 057

WO-A1-2014/093712

WO-A1-2013/176772

DANA CARROLL: "A CRISPR Approach to Gene Targeting", MOLECULAR THERAPY, vol. 20, no. 9, 1 September 2012 (2012-09-01), pages 1658-1660, XP055106489, ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1038/mt.2012.171

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, XP055549487, US ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.1225829

R. SAPRANAUSKAS ET AL: "The Streptococcus thermophilus CRISPR/Cas system provides immunity in Escherichia coli", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 39, no. 21, 3 August 2011 (2011-08-03), pages 9275-9282, XP055265024, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkr606

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. Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats (CRISPR)-Cas-kompleks, omfattende:

- 5 - en Cas9, hvori Cas9 har to eller flere kjernelokaliseringssignaler;
 - en guidesekvens knyttet til en tracr-sammenpassingssekvens, og
 - en tracr-sekvens som kan hybridiseres med hele eller en del av tracr-sammenpassingssekvensen;
 hvori guidesekvensen er utformet for å ha komplementaritet med en målsekvens i en
10 eukaryotisk celle og er i stand til å dirigere sekvensspesifikk binding av CRISPR-komplekset til målsekvensen i den eukaryote cellen.

2. Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats (CRISPR)-Cas-vektorsystem, omfattende:

- 15 a) et første reguleringselement operativt koblet til én eller flere sekvenser som koder for (1) en guidesekvens koblet til en tracr-sammenpassingssekvens, og (2) en tracr-sekvens som er hybridiserbar med hele eller en del av tracr-sammenpassingssekvensen;
 b) et andre reguleringselement operativt knyttet til en sekvens som koder for en Cas9, hvori Cas9 har to eller flere kjernelokaliseringssignaler;
20 hvori komponentene (a) og (b) er lokalisert på samme eller forskjellige vektorer i systemet og hvori guidesekvensen er utformet for å ha komplementaritet med en målsekvens i en eukaryotisk celle.

3. CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge krav 2, hvori sekvensen som koder for Cas9 er
25 kodonoptimalisert for ekspresjon i eukaryote celler.

4. CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 2 eller 3, omfattende to eller flere guidesekvenser.

30 **5.** CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 2-4, hvori de samme eller forskjellige vektorene er én eller flere virale vektorer.

6. CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge krav 5, hvori den ene eller flere virale vektorene er ett eller flere retrovirus-, adenovirus-, adenoassosierte alfavirus- eller herpes simplex-
35 virusvektorer.

7. CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge krav 6, hvori retroviruset er et lentivirus.

8. CRISPR-Cas vektorsystemet ifølge krav 6, hvori alfaviruset er et Sindbis-virus, Semliki Forest-virus eller venezuelansk hesteencefalittvirus.

5 **9.** CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 2-8, hvori komponentene (a) og (b) er lokalisert på den samme vektoren.

10 **10.** CRISPR-Cas-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, hvori tracr-sammenpassingssekvensen kobles med tracr-sekvensen for å danne et kimært RNA (chiRNA).

11. CRISPR-Cas-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, hvori Cas9 dirigerer spalting av begge strengene av et målpolynukleotid som inneholder målsekvensen.

15 **12.** CRISPR-Cas-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, hvori Cas9 er mutert med hensyn til en tilsvarende villtype Cas9 slik at den muterte Cas9 mangler evnen til å spalte én eller begge strengene av et målpolynukleotid som inneholder målsekvensen.

20 **13.** CRISPR-Cas-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10 og 12, hvori Cas9 omfatter en mutasjon valgt fra gruppen som består av D10A, H840A, N854A og N863AD10A med henvisning til posisjonsnummereringen av en *S. pyogenes* Cas9.

25 **14.** CRISPR-Cas-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-13, hvori Cas9 omfatter ett eller flere kjernelokaliseringssignal(er) ved aminoenden, og ett eller flere kjernelokaliseringssignal(er) ved karboksyenden.

30 **15.** CRISPR-Cas-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-14, hvori Cas9 er en *S. pyogenes* Cas9.

16. CRISPR-Cas-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-14, hvori Cas9 er en *S. thermophilus* Cas9.

35 **17.** CRISPR-Cas-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-16 for anvendelse i behandling.

18. Anvendelse av CRISPR-komplekset eller CRISPR-Cas-vektorsystemet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-16 for genomkonstruksjon, hvori anvendelsen ikke er en fremgangsmåte for behandling av dyret eller menneskekroppen ved terapi, og hvori anvendelsen ikke er en prosess for å modifisere den genetiske kimbaneidentiteten til mennesker.