



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3502240 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61P 7/00 (2006.01)
A61K 38/46 (2006.01)
A61P 7/06 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/805 (2006.01)
C12N 9/22 (2006.01)
C12N 15/01 (2006.01)
C12N 15/10 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.10.18
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.05.05
(86)	European Application Nr.	18203436.3
(86)	European Filing Date	2013.11.27
(87)	The European Application's Publication Date	2019.06.26
(30)	Priority	2012.11.27, US, 201261730323 P 2012.11.27, US, 201261730369 P 2013.03.11, US, 201361776144 P 2013.10.10, US, 201361889174 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
(62)	Divided application	EP2925864, 2013.11.27
(73)	Proprietor	The Children's Medical Center Corporation, 55 Shattuck Street, Boston, Massachusetts 02115, USA
(72)	Inventor	ORKIN, Stuart H., 120 Seaver Street, Brookline, MA 02445, USA BAUER, Daniel E., 61 Foster Street, Cambridge, MA 02138, USA XU, Jian, 8612 Lancome Drive, Plano, TX 75025, USA
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	TARGETING BCL11A DISTAL REGULATORY ELEMENTS FOR FETAL HEMOGLOBIN REINDUCTION
(56)	References Cited:	WO-A2-2010/030963 D. E. BAUER ET AL: "An Erythroid Enhancer of BCL11A Subject to Genetic Variation Determines Fetal Hemoglobin Level", SCIENCE, vol. 342, no. 6155, 10 October 2013 (2013-10-

10), pages 253-257, XP055568654, US ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.1242088

GUILLAUME LETTRE ET AL: "DNA polymorphisms at the BCL11A, HBS1L-MYB, and -beta--globin loci associate with fetal hemoglobin levels and pain crises in sickle cell disease", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 105, no. 33, 19 August 2008 (2008-08-19), pages 11869-11874, XP008146198, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.0804799105 [retrieved on 2008-07-30]

MENZEL S ET AL: "A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosome 2p15", NATURE GENETICS, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, US, vol. 39, no. 10, 1 October 2007 (2007-10-01), pages 1197-1199, XP002506824, ISSN: 1061-4036, DOI: 10.1038/NG2108

STUART H. ORKIN: "Recent advances in globin research using genome-wide association studies and gene editing", ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES, vol. 1368, no. 1, 11 March 2016 (2016-03-11), pages 5-10, XP055274553, US ISSN: 0077-8923, DOI: 10.1111/nyas.13001

VIJAY G. SANKARAN ET AL: "Human Fetal Hemoglobin Expression Is Regulated by the Developmental Stage-Specific Repressor BCL11A", SCIENCE, vol. 322, no. 5909, 19 December 2008 (2008-12-19), pages 1839-1842, XP055568754, US ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.1165409

MATTHEW C. CANVER ET AL: "BCL11A enhancer dissection by Cas9-mediated in situ saturating mutagenesis", NATURE, vol. 527, no. 7577, 1 November 2015 (2015-11-01), pages 192-197, XP055274680, United Kingdom ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/nature15521

XU J ET AL: "Correction of Sickle Cell Disease in Adult Mice by Interference with Fetal Hemoglobin Silencing", SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 334, no. 6058, 1 November 2011 (2011-11-01), pages 993-996, XP002736464, ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/SCIENCE.1211053 [retrieved on 2011-10-13]

LIU NAN ET AL: "Direct Promoter Repression by BCL11A Controls the Fetal to Adult Hemoglobin Switch", CELL, CELL PRESS, AMSTERDAM, NL, vol. 173, no. 2, 29 March 2018 (2018-03-29), page 430, XP085371383, ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/J.CELL.2018.03.016

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 å fremstille en human hematopoietisk progenitorcelle som har nedsatt BCL11A mRNA- eller proteinekspresjon, fremgangsmåten omfattende å bringe en
5 isolert hematopoietisk progenitorcelle *ex vivo* eller *in vitro* i kontakt med en DNA-målrettende endonuklease eller en vektor som koder for en DNA-målrettende endonuklease, hvorved den DNA-målrettende endonukleasen binder og spalter det genomiske DNA-et i cellen på kromosom-2-lokasjon 60,716,189-60,728,612 (i henhold til UCSC Genome Browser hg 19 human genommontasje), og forårsaker en sletting av ett eller flere DNase 1-overfølsomme
10 steder (DHS) +62, +58 og +55, og reduserer derved mRNA- eller proteinekspresjonen av BCL11A.
2. Fremgangsmåte for å øke føtale hemoglobinnivåer i en hematopoietisk progenitorcelle, fremgangsmåten omfattende trinnene: å bringe en isolert hematopoietisk progenitorcelle *ex*
15 *vivo* eller *in vitro* i kontakt med en effektiv mengde av en sammensetning omfattende en DNA-målrettende endonuklease eller en vektor som koder for en DNA-målrettende endonuklease hvorved den DNA-målrettede endonukleasen binder og spalter det genomiske DNA-et fra den hematopoietiske progenitorcellen på kromosom 2-lokasjon 60,716,189-60,728,612 og forårsaker minst én genetisk modifikasjon deri, hvori den minst ene genetiske modifikasjonen
20 er en sletting av ett eller flere DNase 1-overfølsomme steder (DHS) +62, +58 og +55, hvorved føtal hemoglobinekspresjon økes i cellen, eller dens avkom, i forhold til cellen før den bringes i kontakt.
3. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller krav 2, hvori den hematopoietiske progenitoren er
25 en celle av erytroidavstamningen.
4. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori slettingen fjerner hele regionen mellom kromosom 2-lokasjon 60,716,189-60,728,612.
- 30 5. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori den DNA-målrettende endonukleasen er en sinkfingernuklease.
6. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori den DNA-målrettende endonukleasen omfatter et TAL DNA-bindingsdomene.

7. Isolert genetisk konstruert human celle omfattende minst én genetisk modifikasjon på kromosom 2-lokasjon 60,716,189-60,728,612, hvori den minst ene genetiske modifikasjonen fremstilles av en DNA-målrettende endonuklease som binder og spalter det genomiske DNA-et
- 5 på kromosom 2-lokasjon 60,716,189-60,728,612, og hvori den minst ene genetiske modifikasjonen er en sletting av ett eller flere DNase 1-overfølsomme steder (DHS) +62, +58 og +55.
8. Den isolerte genetisk konstruerte humane cellen ifølge krav 7, hvori den DNA-
- 10 målrettende endonukleasen er en sinkfingernuklease.
9. Den isolerte genetisk konstruerte humane cellen ifølge krav 7 eller krav 8, hvori den DNA-målrettende endonukleasen omfatter et TAL DNA-bindingsdomene.
- 15 10. Sammensetning omfattende en isolert genetisk konstruert human celle ifølge et hvilket som helst av kravene 7–9.
11. Isolert human hematopoietisk progenitorcelle for anvendelse ved økning av føtale hemoglobinnivåer hos et menneske som har behov derav, hvori den isolerte hematopoietiske
- 20 progenitorcellen er blitt kontaktet *ex vivo* eller *in vivo* med en effektiv mengde av en sammensetning omfattende en DNA-målrettende endonuklease eller en vektor som koder for en DNA-målrettende endonuklease hvorved den DNA-målrettede endonukleasen binder og spalter det genomiske DNA-et av cellen på kromosom 2-lokasjon 60,716,189-60,728,612 som forårsaker minst én genetisk modifikasjon deri, hvori den minst ene genetiske modifikasjonen
- 25 er en sletting av ett eller flere DNase 1-hypersensitive steder (DHS) +62, +58 og +55.
12. Den isolerte humane hematopoietiske progenitorcellen ifølge krav 11, hvori den DNA-målrettende endonukleasen er en sinkfingernuklease.
- 30 13. Den isolerte humane hematopoietiske progenitorcellen ifølge krav 11 eller krav 12, hvori den DNA-målrettende endonukleasen omfatter et TAL DNA-bindingsdomene.