



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3504229 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

A61K 35/28 (2015.01) A61P 7/06 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01) C12N 9/22 (2006.01)

A61P 7/00 (2006.01) C12N 15/90 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.12.20
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.10.13
(86)	European Application Nr.	17844404.8
(86)	European Filing Date	2017.08.24
(87)	The European Application's Publication Date	2019.07.03
(30)	Priority	2016.08.24, US, 201662378978 P 2017.01.09, US, 201762443981 P 2017.08.15, US, 201762545778 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	Sangamo Therapeutics, Inc., 7000 Marina Blvd, Brisbane, CA 94005, USA
(72)	Inventor	MILLER, Jeffrey C., c/o Sangamo Therapeutics Inc. 7000 Marina Blvd, Brisbane California 94005, USA REBAR, Edward J., c/o Sangamo Therapeutics Inc. 7000 Marina Blvd, Brisbane California 94005, USA
(74)	Agent or Attorney	RWS, Europa House, Chiltern Park, Chiltern Hill, SL99FG CHALFONT ST PETER, Storbritannia

(54)	Title	REGULATION OF GENE EXPRESSION USING ENGINEERED NUCLEASES
(56)	References Cited:	WO-A2-2014/036219, US-A1- 2016 090 607, US-A1- 2015 132 269, WO-A2-2015/168547, US-A1- 2013 209 426, US-A1- 2015 322 131, REIK ANDREAS ET AL: "Targeted Gene Modification In Hematopoietic Stem Cells: A Potential Treatment For Thalassemia and Sickle Cell Anemia", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 122, no. 21, 1 November 2013 (2013-11-01), page 434, XP009189204, ISSN: 0006-4971 TASAN IPEK ET AL: "Use of genome-editing tools to treat sickle cell disease", HUMAN GENETICS, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 135, no. 9, 1 June 2016 (2016-06-01), pages 1011- 1028, XP036039649, ISSN: 0340-6717, DOI: 10.1007/S00439-016-1688-0 [retrieved on 2016- 06-01] MATTHEW C CANVER AND STUART H ORKIN: "Customizing the genome as therapy for the [beta]-hemoglobinopathies", BLOOD,, [Online] vol. 127, no. 21, 6 April 2016 (2016-04-06), pages 2536-2545, XP002771817, DOI: 10.1182/BLOOD-2016-01-678128 Retrieved from the Internet: URL: http://www.bloodjournal.org/content/127/21/2536?sso-checked=true [retrieved on 2019- 12-11]

CARMEN F BJURSTRÖM ET AL: "Reactivating Fetal Hemoglobin Expression in Human Adult Erythroblasts Through BCL11A Knockdown Using Targeted Endonucleases", MOLECULAR THERAPY-NUCLEIC ACIDS, vol. 5, 1 January 2016 (2016-01-01), page e351, XP055552882, ISSN: 2162-2531, DOI: 10.1038/mtna.2016.52

REBAR EDWARD J ET AL: "New Zinc Finger Nuclease Architectures for Highly Efficient Genome Engineering in Primary Cells at Large Scale with No Detectable Off-Target Effects", MOLECULAR THERAPY, vol. 25, no. 5, Suppl. 1, May 2017 (2017-05), pages 11-12, XP002796435, & 20TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-GENE-AND-CELL-THERAPY (ASGCT); WASHINGTON, DC, USA; MAY 10 -13, 2017

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. Sinkfingernuklease (ZFN) som omfatter aminosyresekvensen som vist i SEKV ID NR: 29 og aminosyresekvensen som vist i SEKV ID NR: 31.
- 5 2. Ett eller flere polynukleotider som koder én eller flere sinkfingernukleaser ifølge krav 1, opsjonelt der det ene eller de flere polynukleotidene er mRNA.
3. Ett eller flere polynukleotider ifølge krav 2, som omfatter SEKV ID NR: 28 og SEKV
10 ID NR: 30.
4. Én eller flere vektorer som omfatter sekvenser som koder én eller flere sinkfingernukleaser ifølge krav 1.
- 15 5. Celle som omfatter sinkfingernuklease ifølge krav 1, ett eller flere polynukleotider ifølge krav 2 eller krav 3, eller én eller flere vektorer ifølge krav 4.
6. Celle ifølge krav 5, der:
(i) cellen er en stamcelle eller forløpercelle, opsjonelt der cellen er en human celle; og/eller
20 (ii) cellens genom er modifisert av sinkfingernukleasen, opsjonelt der den genomiske modifiseringen er valgt fra gruppen som består av insersjoner, delesjoner og kombinasjoner av dette, så som en genomisk modifisering innenfor +58-regionen i en BCL11A-enhancersekvens.
- 25 7. Celle eller cellelinje som er framstilt fra celle ifølge krav 5 eller krav 6, som omfatter sinkfingernuklease ifølge krav 1, ett eller flere polynukleotider ifølge krav 2 eller krav 3, eller én eller flere vektorer ifølge krav 4.
8. Delvis eller fullt differensiert celle som stammer fra celle eller cellelinje ifølge et av
30 kravene 5 til 7, som omfatter sinkfingernuklease ifølge krav 1, ett eller flere polynukleotider ifølge krav 2 eller krav 3, eller én eller flere vektorer ifølge krav 4.
9. Celle eller cellelinje ifølge et av kravene 5 til 8, der cellens genom er modifisert av sinkfingernukleasen, og cellen eller cellelinjen viser økt uttrykk av gamma- og/eller beta-
35 globin sammenliknet med en celle eller cellelinje uten den genomiske modifiseringen.

10. Farmasøytisk sammensetning som omfatter sinkfingernuklease ifølge krav 1, ett eller flere polynukleotider ifølge krav 2 eller krav 3, én eller flere vektorer ifølge krav 4, og/eller celle eller cellelinje ifølge et av kravene 5–9.
- 5 11. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 10, som omfatter celle eller cellelinje ifølge et av kravene 5–9 og ytterligere omfatter propagerte og differensierte celler som stammer fra cellen eller cellelinjen.
- 10 12. *In vitro* framgangsmåte for å modifisere en endogen BCL11A-enhancersekvens i en celle, der framgangsmåten omfatter å administrere sinkfingernuklease ifølge krav 1, eller ett eller flere polynukleotider ifølge krav 2 eller krav 3, til cellen, slik at den endogene BCL11A-enhancersekvensen blir modifisert, opsjonelt der:
- 15 (i) framgangsmåten ytterligere omfatter å føre inn en eksogen sekvens i cellen, slik at den eksogene sekvensen blir inserert i den endogene BCL11A-enhancersekvensen; eller (ii) modifiseringen omfatter en delesjon.
- 20 13. Farmasøytisk sammensetning ifølge krav 10 eller krav 11 til bruk i en framgangsmåte for å behandle en hemoglobinopati, så som en talassemi (f.eks. beta-talassemi) eller sigdcellesykdom, hos en pasient, der framgangsmåten omfatter å administrere den farmasøytiske sammensetningen til pasienten, opsjonelt der pasienten er et menneske.
- 25 14. *In vitro* framgangsmåte for å framstille en genetisk modifisert celle som omfatter en genomisk modifisering innenfor en endogen BCL11A-enhancersekvens, der framgangsmåten omfatter trinnene:
- a) å sette en celle i kontakt med ett eller flere polynukleotider ifølge krav 2 eller krav 3; b) å utsette cellen for forhold som fremmer uttrykk av fusjonsproteinet fra polynukleotidet; og
- 30 c) å modifisere den endogene BCL11A-enhancersekvensen med det uttrykte fusjonsproteinet tilstrekkelig til å framstille den genetisk modifiserte cellen, opsjonelt der framgangsmåten ytterligere omfatter å stimulere cellen med minst ett cytokin.
- 35 15. Sett (kit) som omfatter sinkfingernuklease ifølge krav 1, ett eller flere polynukleotider ifølge krav 2 eller krav 3, én eller flere vektorer ifølge krav 4, og/eller celle eller cellelinje ifølge et av kravene 5–9.

16. Celle eller cellelinje ifølge et av kravene 5–9 til bruk i en framgangsmåte for å behandle eller forebygge en hemoglobinopati, så som en talassemi (f.eks. beta-talassemi) eller sigdcellesykdom.

- 5 17. Celle eller cellelinje til bruk ifølge krav 16, der cellen er en human stamcelle eller forløpercelle, og cellens genom er modifisert innenfor BCL11A-enhancersekvensen av sinkfingernukleasen, opsjonelt der:
- 10 (i) cellene blir ekspandert før administrering til et individ;
- (ii) cellene blir administrert til individet i et beinmargstransplantat, der cellene fester seg, differensieres og modnes *in vivo*; og/eller
- (iii) individet blir behandlet etter en mild myeloablativ prosedyre eller et sterkt myeloablativt kondisjoneringsregime før et transplantat som omfatter cellene, blir ført inn.