



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3507366 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/113 (2010.01)
A61K 31/712 (2006.01)
C12N 15/10 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.11.16
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.10.07
(86)	European Application Nr.	17771348.4
(86)	European Filing Date	2017.08.31
(87)	The European Application's Publication Date	2019.07.10
(30)	Priority	2016.09.01, GB, 201614858 2016.09.27, GB, 201616374 2016.12.16, GB, 201621467 2017.02.24, GB, 201703034 2017.05.10, GB, 201707508
(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	ProQR Therapeutics II B.V., Zernikedreef 9, 2333 CK Leiden, Nederland
(72)	Inventor	TURUNEN, Janne Juha, ProQR Therapeutics II B.V.Zernikedreef 9, 2333 CK Leiden, Nederland AALTO, Antti, ProQR Therapeutics II B.V.Zernikedreef 9, 2333 CK Leiden, Nederland KLEIN, Bart, ProQR Therapeutics II B.V.Zernikedreef 9, 2333 CK Leiden, Nederland VAN SINT FIET, Lenka, ProQR Therapeutics II B.V.Zernikedreef 9, 2333 CK Leiden, Nederland BOUDET, Julien Auguste Germain, ProQR Therapeutics II B.V.Zernikedreef 9, 2333 CK Leiden, Nederland
(74)	Agent or Attorney	Nordic Patent Service A/S, Bredgade 30, 1260 KØBENHAVN K, Danmark

(54)	Title	CHEMICALLY MODIFIED SINGLE-STRANDED RNA-EDITING OLIGONUCLEOTIDES
(56)	References Cited:	WO-A1-2016/097212 WO-A1-2014/011053 WOOLF T M ET AL: "TOWARD THE THERAPEUTIC EDITING OF MUTATED RNA SEQUENCES", PROCEEDINGS NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 92, 1 August 1995 (1995-08-01), pages 8298-8302, XP000574995, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.92.18.8298 cited in the application MARIA FERNANDA MONTIEL-GONZÁLEZ ET AL: "An efficient system for selectively altering

genetic information within mRNAs", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 44, 23 August 2016 (2016-08-23), page e157, XP055404024, GB ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkw738

M. F. MONTIEL-GONZALEZ ET AL: "Correction of mutations within the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator by site-directed RNA editing", PROCEEDINGS NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 110, no. 45, 9 October 2013 (2013-10-09), pages 18285-18290, XP055404008, US ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1306243110 cited in the application

VIVEK K SHARMA ET AL: "Oligonucleotide therapeutics: chemistry, delivery and clinical progress", FUTURE MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 7, no. 16, 1 October 2015 (2015-10-01), pages 2221-2242, XP055428414, GB ISSN: 1756-8919, DOI: 10.4155/fmc.15.144 cited in the application

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. Antisense-oligonukleotid (AON) i stand til å danne et dobbeltstrenget kompleks med en mål-RNA-sekvens i en celle, fortrinnsvis en human celle, for deamineringen av et måladenosin i mål-RNA-sekvensen med et ADAR-enzym til stede i cellen, AON-et omfattende en midtre
5 triplett med 3 sekvensielle nukleotider, hvori nukleotidet rett overfor måladenosinet er det midtre nukleotidet til den midtre tripletten, hvori 1, 2 eller 3 nukleotider i den midtre tripletten omfatter en sukkermodifikasjon og/eller en basemodifikasjon for å gjøre AON-et mer stabilt og/eller mer effektivt i å indusere deaminering av måladenosinet; med forbeholdet om at det midtre nukleotidet ikke har en 2'-O-metyl-modifikasjon.
10
2. AON-et ifølge krav 1, hvori 2 eller 3 nukleotider i den midtre tripletten ikke har en 2'-O-metylmodifikasjon.
3. AON-et ifølge krav 1 eller 2, hvori 1 eller 2 nukleotider i den midtre tripletten,
15 fortrinnsvis bortsett fra det midtre nukleotidet, erstattes av et inosin.
4. AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori AON-et ikke omfatter en del som er i stand til å danne en intramolekylær stamme-sløyfe struktur som er i stand til å binde et ADAR-enzym fra pattedyr.
20
5. AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori sukkermodifikasjonen velges fra gruppen som består av deoksyribose (DNA), ulåst nukleinsyre (UNA) og 2'-fluororibose.
- 25 6. AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori AON-et omfatter minst én internukleosidkoblingsmodifikasjon valgt fra gruppen som består av fosfortioat, 3'-metylenfosfonat, 5'-metylenfosfonat, 3'-fosforamidat og 2'-5'-fosfodiester.
7. AON-et ifølge krav 6, hvori de 2, 3, 4, 5 eller 6 terminale nukleotidene til 5'- og 3'-enden til AON-et kobles med fosfortioatbindinger, fortrinnsvis hvori ende-5-nukleotidene ved
30 5'- og 3'-endene kobles med fosfortioatbindinger.
8. AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvori bunnmodifikasjonen velges fra gruppen som består av 2-aminopurin, 2,6-diaminopurin, 3-deazaadenosin, 7-deazaadenosin,

7-metyladenosin, 8-azidoadenosin, 8-metyladenosin, 5-hydroksymetylcytosin, 5-metylcytidin, pyrrolocytidin, 7-aminometyl-7-deazaguanosin, 7-deazaguanosin, 7-metylguanosin, 8-aza-7-deazaguanosin, tienoguanosin, inosin, 4-tio-uridin, 5-metoksyuridin, dihydrouridin og pseudouridin.

- 5
9. AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvori det midtre nukleotidet i den midtre tripletten er et cytidin eller et uridin.
10. AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvori ett eller flere nukleotider i AON-et utenfor den midtre tripletten omfatter en modifikasjon valgt fra gruppen som består av: DNA, en 2'-O-alkylgruppe så som en 2'-O-metylgruppe, en 2'-O-MOE-gruppe, en 2'-F-gruppe, en 2'-NH₂-gruppe og en LNA; eller kombinasjoner derav.
- 10 15 11. AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvori AON-et omfatter 18 til 70 nukleotider, fortrinnsvis omfatter 18 til 60 nukleotider, mer foretrukket omfatter 18 til 50 nukleotider.
12. Farmasøytisk sammensetning omfattende AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11, og en farmasøytisk akseptabel bærer.
- 20
13. AON-et ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11 for anvendelse i behandlingen eller forebyggingen av en genetisk lidelse, fortrinnsvis valgt fra gruppen som består av: cystisk fibrose, Hurlers syndrom, alfa-1-antitrypsinmangel (A1AT-mangel), Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, albinisme, amyotrofisk lateral sklerose, astma, β -talassemi, Cadasils syndrom, Charcot-Marie-Tooth sykdom, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), distal spinal muskelatrofi (DSMA), Duchenne/Becker-muskeldystrofi, dystrofisk epidermolysis bullosa, epidermylosis bullosa, Fabrys sykdom, faktor V Leiden-assosierte lidelser, familiær adenomatose, polypose, galaktosemi, Gauchers sykdom, glukose-6-fosfatdehydrogenase, hemofili, arvelig hematokromatose, Hunters syndrom, Huntingtons sykdom, inflammatorisk tarmsykdom (IBD), arvelig polyagglutinasjonssyndrom, Lebers medfødte amaurose, Lesch-Nyhans syndrom, Lynchs syndrom, Marfans syndrom, mukopolysakkaridose, muskeldystrofi, myotonisk dystrofi av type I og II, nevrofibromatose, Niemann-Picks sykdomstype A, B og C, NY-eso1-relatert kreft, Peutz-Jeghers syndrom, fenylketonuri, Pompes sykdom, primær ciliær sykdom, protrombinmutasjonsrelaterte forstyrrelser, så som protrombin-G20210A-mutasjonen,
- 25 30

pulmonal hypertensjon, retinitis pigmentosa, Sandhoff sykdom, alvorlig kombinert immunsviktsyndrom (SCID), sigdcelleanemi, spinal muskelatrofi, Stargardts sykdom, Tay-Sachs sykdom, Ushers syndrom, X-bundet immunsvikt, Sturge-Webers syndrom og kreft.

- 5 14. In vitro-fremgangsmåte for deamineringen av minst ett spesifikt måladenosin til stede i en mål-RNA-sekvens i en celle, fremgangsmåten omfattende trinnene:
 - (i) å tilveiebringe cellen med et AON ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11;
 - (ii) å tillate opptak av cellen av AON-et;
 - (iii) å tillate annealing av AON-et til mål-RNA-sekvensen;
 - 10 (iv) å tillate et pattedyr-ADAR-enzym omfattende et naturlig dsRNA-bindende domene som funnet i villtypeenzymet å deaminere måladenosinet i mål-RNA-sekvensen til et inosin; og
 - (v) eventuelt å identifisere tilstedeværelsen av inosinet i RNA-sekvensen.
- 15 15. Fremgangsmåten ifølge krav 14, hvori trinn (v) omfatter:
 - a) å sekvensere mål-RNA-sekvensen;
 - b) å vurdere tilstedeværelsen av et protein som er funksjonelt, langstrakt, har full lengde og/eller er av villtype når måladenosinet er lokalisert i et UGA- eller UAG-stoppkodon, som redigeres til et UGG-kodon gjennom deamineringen;
 - 20 c) å vurdere tilstedeværelsen av et protein som er funksjonelt, langstrakt, har full lengde og/eller er av villtype når to måladenosiner er lokalisert i et UAA-stoppkodon, som redigeres til et UGG-kodon gjennom deamineringen av begge måladenosinene;
 - d) å vurdere om spleising av pre-mRNA-et ble endret ved deamineringen; eller
 - e) å anvende en funksjonell avlesning, hvori mål-RNA-et etter deamineringen koder for et
 - 25 protein som er funksjonelt, langstrakt, har full lengde og/eller er av villtype.