



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3636764 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/67 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.04.12
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.03.03
(86)	European Application Nr.	19198322.0
(86)	European Filing Date	2016.10.05
(87)	The European Application's Publication Date	2020.04.15
(30)	Priority	2015.10.07, WO, PCT/EP15/073180
(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
(62)	Divided application	EP3337902, 2016.10.05
(73)	Proprietor	BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbH, An der Goldgrube 12, 55131 Mainz, Tyskland TRON - Translationale Onkologie an der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg- Universität Mainz gemeinnützige GmbH, Freiligrathstrasse 12, 55131 Mainz, Tyskland
(72)	Inventor	ORLANDINI VON NIESSEN, Alexandra, c/o BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbHAn der Goldgrube 12, 55131 Mainz, Tyskland FESSER, Stephanie, c/o BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbHAn der Goldgrube 12, 55131 Mainz, Tyskland VALLAZZA, Britta, c/o BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbHAn der Goldgrube 12, 55131 Mainz, Tyskland BEISSERT, Tim, c/o BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbHAn der Goldgrube 12, 55131 Mainz, Tyskland KUHN, Andreas, c/o BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbHAn der Goldgrube 12, 55131 Mainz, Tyskland SAHIN, Ugur, c/o BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbHAn der Goldgrube 12, 55131 Mainz, Tyskland POLEGANOV, Marco Alexander, c/o BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbHAn der Goldgrube 12, 55131 Mainz, Tyskland

(74) Agent or Attorney Nordic Patent Service A/S, Bredgade 30, 1260 KØBENHAVN K, Danmark

(54) Title **3' UTR SEQUENCES FOR STABILIZATION OF RNA**

(56) References

Cited:

WO-A1-2013/143698

WO-A2-02/098443

WO-A2-2015/101414

WO-A2-2008/112127

WO-A2-2007/036366

WO-A1-2015/101415

WO-A1-2013/143699

WO-A2-2013/143700

WO-A1-2007/068265

WO-A1-2013/120629

LEDDA M ET AL: "Effect of 3'UTR length on the translational regulation of 5'-terminal oligopyrimidine mRNAs", GENE, vol. 344, 3 January 2005 (2005-01-03), pages 213-220, XP027872598, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL ISSN: 0378-1119 [retrieved on 2005-01-03]

LEE CHANGHAN ET AL: "The mitochondrial-derived peptide MOTS-c promotes metabolic homeostasis and reduces obesity and insulin resistance.", CELL METABOLISM, vol. 21, no. 3, 3 March 2015 (2015-03-03), pages 443-454, XP002767664, ISSN: 1932-7420

Alexandra Gabriela Orlandi von Niessen: "Optimization of RNA cancer vaccines using 3' UTR sequence selected for stabilization of RNA (Dissertation)", , 5 September 2016 (2016-09-05), pages FP-108, I-VII, XP002767665, Fachbereich Biologie der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz Retrieved from the Internet: URL:https://publications.ub.uni-mainz.de/theses/volltexte/2016/100000811/pdf/1000008_11.pdf [retrieved on 2017-02-28]

S. HOLTKAMP ET AL: "Modification of antigen-encoding RNA increases stability, translational efficacy, and T-cell stimulatory capacity of dendritic cells", BLOOD, vol. 108, no. 13, 15 December 2006 (2006-12-15), pages 4009-4017, XP055044965, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2006-04-015024

XIA HONGWEI ET AL: "Suppression of RND3 activity by AES downregulation promotes cancer cell proliferation and invasion.", INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE, vol. 31, no. 5, May 2013 (2013-05), pages 1081-1086, XP002767661, ISSN: 1791-244X

PIEPER LISA A ET AL: "Secretory pathway optimization of CHO producer cells by co-engineering of the mitoRNA-1978 target genes CerS2 and Tbc1D20.", METABOLIC ENGINEERING, 11 January 2017 (2017-01-11), XP002767666, ISSN: 1096-7184

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. Nukleinsyremolekyl omfattende i 5' → 3'-transkripsjonsretningen:

(a) en promotor;

(b) en transkriberbar nukleinsyresekvens omfattende en nukleinsyresekvens som koder for et peptid eller protein; og

(c) en nukleinsyresekvens som, når transkribert under kontrollen av promotoren (a), koder for en 3'-ikke-translatert region i transkriptet,

den 3'-ikke-translaterte regionen omfattende en kombinasjon av en nukleinsyresekvens av den 3'-ikke-translaterte regionen av aminoterminal splittelsesforsterker (AES) og en nukleinsyresekvens av det ikke-kodende RNA-et fra mitokondrielt kodende 12S RNA (MT-RNR1),

hvor i nukleinsyresekvensen til den 3'-ikke-translaterte regionen av AES omfatter eller består av en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen som består av SEQ ID NO: 86 til 89 eller en nukleinsyresekvens som er minst 90 % identisk med en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen som består av SEQ ID NO: 86 til 89, og

hvor i nukleinsyresekvensen til det ikke-kodende RNA-et av MT-RNR1 omfatter eller består av en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen som består av SEQ ID NO: 105 til 121 eller en nukleinsyresekvens som er minst 90 % identisk med en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen som består av SEQ ID NO: 105 til 121.

2. Nukleinsyremolekylet ifølge krav 1, hvor i nukleinsyresekvensen til den 3'-ikke-translaterte regionen av AES omfatter eller består av nukleinsyresekvensen til SEQ ID NO: 86 eller en nukleinsyresekvens som er minst 90 % identisk med nukleinsyresekvensen til SEQ ID NO: 86.

3. Nukleinsyremolekylet ifølge krav 1 eller 2, hvor i nukleinsyresekvensen til det ikke-kodende RNA-et av MT-RNR1 omfatter eller består av nukleinsyresekvensen til SEQ ID NO: 115 eller en nukleinsyresekvens som er minst 90 % identisk med nukleinsyresekvensen til SEQ ID NO: 115.

4. Nukleinsyremolekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor i nukleinsyresekvensen til den 3'-ikke-translaterte regionen av AES er lokalisert 5' i forhold til nukleinsyresekvensen til det ikke-kodende RNA-et til MT-RNR1.

5. Nukleinsyremolekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori den 3'-ikke-translaterte regionen omfattende en kombinasjon av nukleinsyresekvensen til den 3'-ikke-translaterte regionen av AES og nukleinsyresekvensen til det ikke-kodende RNA-et til MT-RNR1 omfatter eller består av nukleinsyresekvensen til SEQ ID NO: 174 eller en
5 nukleinsyresekvens som er minst 90 % identisk med nukleinsyresekvensen til SEQ ID NO: 174.
6. Nukleinsyremolekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, videre omfattende
10 (d) en nukleinsyresekvens som, når transkribert under kontrollen av promotoren (a), koder for en nukleinsyresekvens som er en polyadenylsekvens, hvori eventuelt polyadenylsekvensen omfatter i polyadenylsekvensen en sekvens av ett eller flere påfølgende nukleotider som inneholder andre nukleotider enn A-nukleotider.
7. Nukleinsyremolekylet ifølge krav 6, som har ett eller flere av de følgende trekkene:
15 (i) polyadenylsekvensen omfatter minst 20 A-nukleotider, fortrinnsvis minst 40, minst 80, minst 100 eller minst 120 A-nukleotider, fortrinnsvis påfølgende A-nukleotider;
(ii) sekvensen av ett eller flere påfølgende nukleotider som inneholder andre nukleotider enn A-nukleotider er en sekvens av 2 eller flere påfølgende nukleotider, hvori det første og det siste nukleotidet i sekvensen av 2 eller flere påfølgende nukleotider er et annet
20 nukleotid enn et A-nukleotid;
(iii) polyadenylsekvensen omfatter minst 80 nukleotider, fortrinnsvis minst 90 eller 100 nukleotider;
(iv) sekvensen av ett eller flere påfølgende nukleotider som inneholder andre nukleotider enn A-nukleotider er lokalisert i en region fra posisjon 21 til posisjon 80,
25 fortrinnsvis fra posisjon 21 til posisjon 60, mer foretrukket fra posisjon 31 til posisjon 50 av polyadenylsekvensen;
(v) sekvensen av ett eller flere påfølgende nukleotider som inneholder andre nukleotider enn A-nukleotider innledes med minst 20 A-rester i polyadenylsekvensen og/eller etterfølges av minst 20 A-rester i polyadenylsekvensen;
30 (vi) sekvensen av ett eller flere påfølgende nukleotider som inneholder andre nukleotider enn A-nukleotider har en lengde på minst 3, minst 4, minst 5, minst 6, minst 8, fortrinnsvis minst 10, mer foretrukket minst 15 nukleotider;
(vii) sekvensen av ett eller flere påfølgende nukleotider som inneholder andre nukleotider enn A-nukleotider har en lengde på høyst 50, fortrinnsvis høyst 30, mer foretrukket

høyst 20 nukleotider;

(viii) sekvensen av ett eller flere påfølgende nukleotider som inneholder andre nukleotider enn A-nukleotider omfatter ikke mer enn 3, fortrinnsvis ikke mer enn 2, fortrinnsvis ingen påfølgende A-rester;

5 (ix) i transkriptet er polyadenylsekvensen lokalisert i 3'-enden;

(x) i transkriptet er polyadenylsekvensen en umaskert polyadenylsekvens.

8. Nukleinsyremolekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvori peptidet eller proteinet er et sykdomsassosiert antigen, hvori, fortrinnsvis, det sykdomsassosierte antigenet er
10 valgt fra gruppen som består av et tumorassosiert antigen, et viralt antigen og et bakterielt antigen, hvori det tumorassosierte antigenet fortrinnsvis ikke uttrykkes i normale vev eller muteres i tumorceller.

9. RNA som kan oppnås ved transkripsjon, fortrinnsvis in vitro transkripsjon, ved
15 anvendelse av et nukleinsyremolekyl ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8 som en mal.

10. RNA omfattende i 5' → 3'-retningen:

(a) en 5'-ikke-translatert region;

(b) en nukleinsyresekvens som koder for et peptid eller protein; og

20 (c) en 3'-ikke-translatert region, den 3'-ikke-translaterte regionen omfattende en kombinasjon av en nukleinsyresekvens av den 3'-ikke-translaterte regionen av aminoterminal splittelsesforsterker (AES) og en nukleinsyresekvens av det ikke-kodende RNA-et av mitokondrialt kodet 12S RNA (MT-RNR1), hvori nukleinsyresekvensen til den 3'-ikke-translaterte regionen av AES omfatter eller består av en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen
25 som består av SEQ ID NO: 86 til 89 eller en nukleinsyresekvens som er minst 90 % identisk med en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen som består av SEQ ID NO: 86 til 89, og

hvor nukleinsyresekvensen til det ikke-kodende RNA-et av MT-RNR1 omfatter eller består av en nukleinsyresekvens valgt fra gruppen som består av SEQ ID NO: 105 til 121 eller en nukleinsyresekvens som er minst 90 % identisk med en nukleinsyresekvens valgt fra
30 gruppen som består av SEQ ID NO: 105 til 121.

11. RNA-et ifølge krav 10, videre omfattende (d) en nukleinsyresekvens som er en polyadenylsekvens, hvori, eventuelt, polyadenylsekvensen omfatter i polyadenylsekvensen en sekvens av ett eller flere påfølgende nukleotider som inneholder andre nukleotider enn A-

nukleotider, hvori, fortrinnsvis nukleinsyresekvensen (d) er lokalisert ved 3'-enden av RNA-et.

12. RNA-et ifølge krav 10 eller 11, videre omfattende (e) en 5'-hette eller 5'-hetteanalog.

5 **13.** RNA-et ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 12, hvori peptidet eller proteinet er et sykdomsassosiert antigen, hvori, fortrinnsvis, det sykdomsassosierte antigenet er valgt fra gruppen som består av et tumorassosiert antigen, et viralt antigen og et bakterielt antigen, hvori, fortrinnsvis, det tumorassosierte antigenet ikke uttrykkes i normale vev eller muteres i tumorceller.

10 **14.** RNA ifølge et hvilket som helst av kravene 9 til 13 for anvendelse i en fremgangsmåte for å transfektere en vertscelle, hvori vertscellen fortrinnsvis er en antigenpresenterende celle, særlig en dendrittcelle, en monocytt eller en makrofag.

15 **15.** RNA ifølge et hvilket som helst av kravene 9 til 13 for anvendelse i en vaksinasjonsfremgangsmåte.