



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 4140491 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

A61K 31/711 (2006.01)

C07H 21/02 (2006.01)

A61K 31/7115 (2006.01)

C12N 15/11 (2006.01)

A61K 31/712 (2006.01)

C12P 19/34 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.01.15
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.09.13
(86)	European Application Nr.	22190426.1
(86)	European Filing Date	2016.09.20
(87)	The European Application's Publication Date	2023.03.01
(30)	Priority	2015.09.21, US, 201562221248 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	TriLink BioTechnologies, LLC, 10770 Wateridge Circle, Suite 200, San Diego, CA 92121, USA
(72)	Inventor	HOGREFE, Richard I., San Diego, 92109, USA LEBEDEV, Alexandre, San Diego, 92121, USA MCCAFFREY, Anton P., San Diego, 92109, USA SHIN, Dongwon, San Diego, 92131, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **METHOD FOR SYNTHESIZING 5'-CAPPED RNAS**

(56) References
Cited:

WO-A2-2008/016473

WO-A2-2009/058911

I. I. KOUKHAREVA ET AL: "Chemical Route to the Capped RNAs", NUCLEOSIDES,
NUCLEOTIDES AND NUCLEIC ACIDS., vol. 23, no. 10, 1 January 2004 (2004-01-01), pages
1667-1680, XP055553747, US ISSN: 1525-7770, DOI: 10.1081/NCN-200031492

HIROAKI SAWAI ET AL: "Synthesis and Reactions of Nucleoside 5'-Diphosphate Imidazolide. A
Nonenzymatic Capping Agent for 5'-Monophosphorylated Oligoribonucleotides in Aqueous
Solution", JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 64, no. 16, 1 August 1999 (1999-08-01),
pages 5836-5840, XP055331109, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/jo990286u

M. Ishikawa ET AL: "Preparation of eukaryotic mRNA having differently methylated adenosine at
the 5'-terminus and the effect of the methyl group in translation", Nucleic Acids Symposium
Series, vol. 53, no. 1, 1 September 2009 (2009-09-01), pages 129-130, XP055331388, GB
ISSN: 0261-3166, DOI: 10.1093/nass/nrp065

Y. THILLIER ET AL: "Synthesis of 5' cap-0 and cap-1 RNAs using solid-phase chemistry coupled
with enzymatic methylation by human (guanine-N7)-methyl transferase", RNA, vol. 18, no. 4, 14
February 2012 (2012-02-14), pages 856-868, XP055553150, US ISSN: 1355-8382, DOI:
10.1261/rna.030932.111

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/>

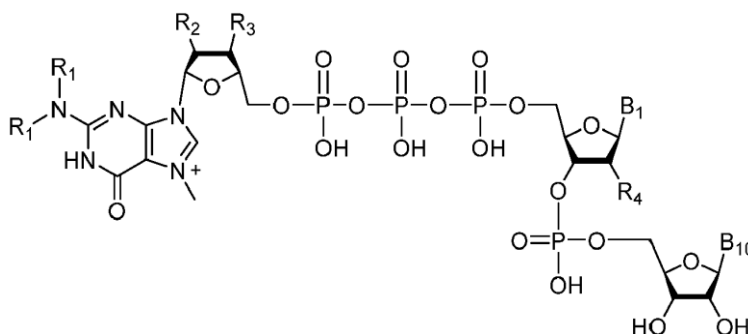
4140491

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for syntetisering av et RNA-molekyl, omfattende trinnene av:

(a) å innføre en initierende capped oligonukleotidprimer med følgende struktur:

5



hvor:

B₁ og B₁₀ uavhengig av hverandre er en naturlig nukleosidbase;

R₁ er H eller metyl;

10

R₂ og R₃ er uavhengig av hverandre H, OH, alkyl, O-alkyl eller halogen; og

R₄ er H, OH eller OMe,

i en blanding som omfatter et polynukleotidtemplat og en RNA-polymerase under betingelser som bidrar til transkripsjon av RNA-polymerasen av polynukleotidtemplatet, hvor:

15

B₁ i den initierende oligonukleotidprimer er komplementær til basen på posisjon +1 i promotorsekvensen av polynukleotidtemplatet; og

(b) å inkubere den resulterende blanding i en tid som er tilstrekkelig til å muliggjøre transkripsjon av nevnte templat.

20

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor B₁₀ i den initierende oligonukleotidprimer er komplementær til basen på posisjon +2 i promotorsekvensen av polynukleotidtemplatet.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor R₁ er H.

25

4. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor R₂ er OH eller OMe.

4140491

5. Fremgangsmåte ifølge krav 4, hvor R_2 er OH.

6. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor R_3 er OH eller OMe.

5 **7.** Fremgangsmåte ifølge krav 6, hvor R_3 er OMe.

8. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor R_4 er OH eller OMe.

9. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor R_4 er OMe.

10

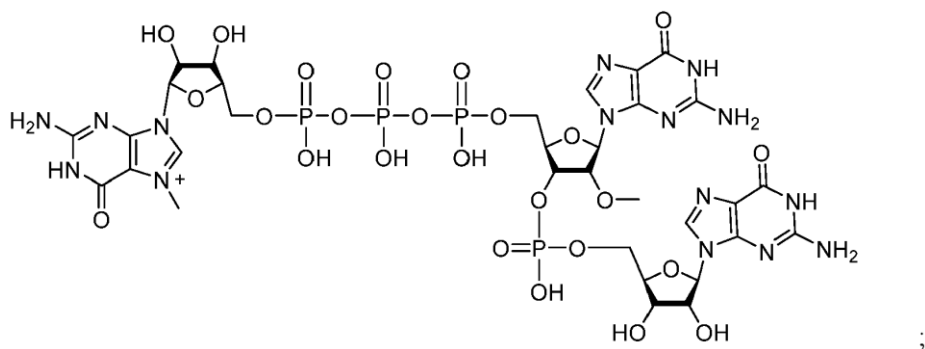
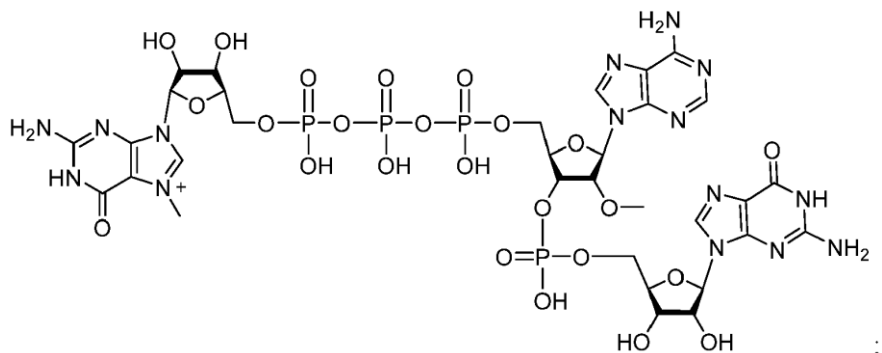
10. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor B_1 er adenin eller guanin.

11. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor B_{10} er guanin eller uracil.

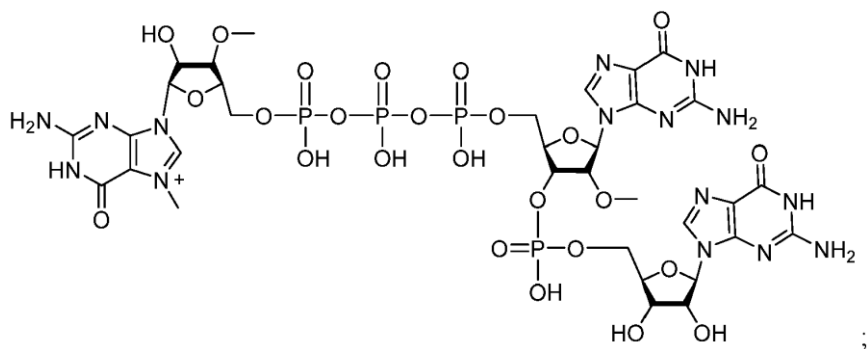
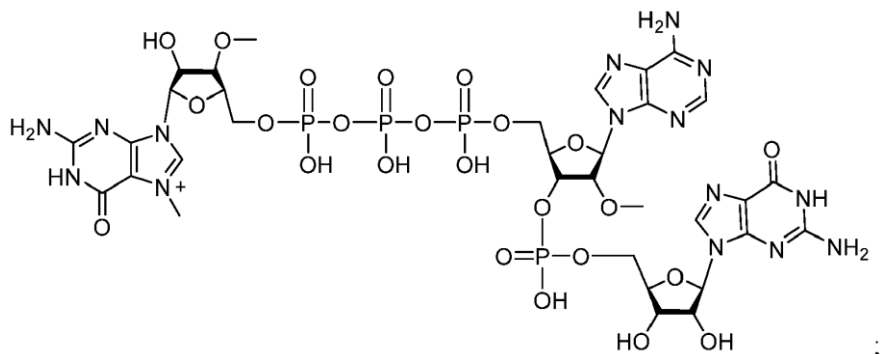
15 **12.** Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor den initierende capped oligonukleotidprimer velges blant $m^7GpppApA$, $m^7GpppApC$, $m^7GpppApG$, $m^7GpppApU$, $m^7GpppCpA$, $m^7GpppCpC$, $m^7GpppCpG$, $m^7GpppCpU$, $m^7GpppGpA$, $m^7GpppGpC$, $m^7GpppGpG$, $m^7GpppGpU$, $m^7GpppUpA$, $m^7GpppUpC$, $m^7GpppUpG$, $m^7GpppUpU$, $m^7GpppA_{2'O}pA$, $m^7GpppA_{2'O}pC$, $m^7GpppA_{2'O}pG$,
 20 $m^7GpppA_{2'O}pU$, $m^7GpppC_{2'O}pA$, $m^7GpppC_{2'O}pC$, $m^7GpppC_{2'O}pG$, $m^7GpppC_{2'O}pU$, $m^7GpppG_{2'O}pA$, $m^7GpppG_{2'O}pC$, $m^7GpppG_{2'O}pG$, $m^7GpppG_{2'O}pU$, $m^7GpppU_{2'O}pA$, $m^7GpppU_{2'O}pC$, $m^7GpppU_{2'O}pG$, $m^7GpppU_{2'O}pU$, $m^7G_{3'O}pppApA$, $m^7G_{3'O}pppApC$, $m^7G_{3'O}pppApG$, $m^7G_{3'O}pppApU$, $m^7G_{3'O}pppCpA$, $m^7G_{3'O}pppCpC$, $m^7G_{3'O}pppCpG$,
 25 $m^7G_{3'O}pppCpU$, $m^7G_{3'O}pppGpA$, $m^7G_{3'O}pppGpC$, $m^7G_{3'O}pppGpG$, $m^7G_{3'O}pppGpU$, $m^7G_{3'O}pppUpA$, $m^7G_{3'O}pppUpC$, $m^7G_{3'O}pppUpG$, $m^7G_{3'O}pppUpU$, $m^7G_{3'O}pppA_{2'O}pA$, $m^7G_{3'O}pppA_{2'O}pC$, $m^7G_{3'O}pppA_{2'O}pG$, $m^7G_{3'O}pppA_{2'O}pU$, $m^7G_{3'O}pppC_{2'O}pA$, $m^7G_{3'O}pppC_{2'O}pC$, $m^7G_{3'O}pppC_{2'O}pG$, $m^7G_{3'O}pppC_{2'O}pU$,
 30 $m^7G_{3'O}pppG_{2'O}pA$, $m^7G_{3'O}pppG_{2'O}pC$, $m^7G_{3'O}pppG_{2'O}pG$, $m^7G_{3'O}pppG_{2'O}pU$, $m^7G_{3'O}pppU_{2'O}pA$, $m^7G_{3'O}pppU_{2'O}pC$, $m^7G_{3'O}pppU_{2'O}pG$ og $m^7G_{3'O}pppU_{2'O}pU$.

4140491

13. Fremgangsmåte ifølge krav 12, hvor den initierende capped oligonukleotidprimer velges blant:

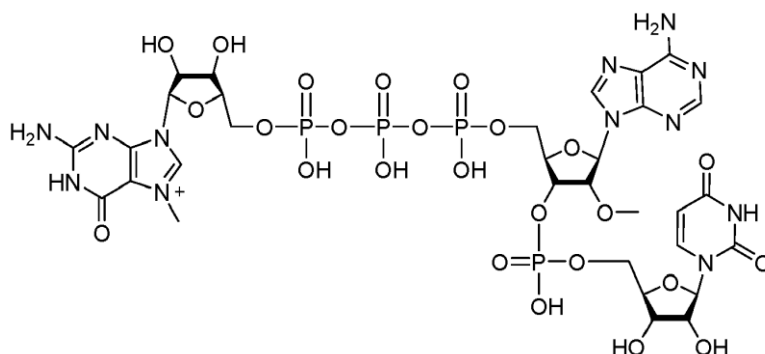


5



10 og

4140491



14. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 13, hvor RNA-
5 polymerasen er T7-polymerase.

15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 14, hvor blandingen
omfatter nukleosid-5'-trifosfater.

10 16. Fremgangsmåte ifølge krav 15, hvor nukleosid-5'-trifosfatene er GTP, ATP, CTP
og UTP, valgfritt hvor UTP-et er et pseudouridintrifosfat.

17. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 16, hvor
15 polynukleotidtemplatet er et DNA-templat.

18. Fremgangsmåte ifølge krav 17, hvor nevnte DNA-templat velges blant et
dobbelstrenget lineært DNA, et delvis dobbelstrenget lineært DNA, sirkulært
dobbelstrenget DNA, et DNA-plasmid eller et PCR-amplikon.

20 19. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 18, hvor
polynukleotidtemplatet omfatter et 2'-deoksytymidin ved templatposisjon +1, og/eller
et 2'-deoksytytidin ved templatposisjon +2.