



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2015156801, 29.04.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

31.05.2013 US 61/829,656;

27.08.2013 US 61/870,558

(43) Дата публикации заявки: 06.07.2017 Бюл. № 19

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 31.12.2015

(86) Заявка РСТ:

US 2014/035847 (29.04.2014)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2014/193583 (04.12.2014)

Адрес для переписки:

123242, Москва, пл. Кудринская, д. 1, а/я 35,
"Михайлюк, Сороколат и партнеры - патентные
поверенные"

(71) Заявитель(и):

РЕКОМБИНЕТИКС, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

КАРЛСОН Даниэль Ф. (US),**ФАРЕНКРУГ Скотт К. (US)****(54) ГЕНЕТИЧЕСКИ СТЕРИЛЬНЫЕ ЖИВОТНЫЕ****(57) Формула изобретения**

1. Генетически модифицированное сельскохозяйственное животное, при этом животное содержит генетическую модификацию для разрушения целевого гена, селективно задействованного в гаметогенезе, где разрушение целевого гена предотвращает образование функциональных гамет у животного.

2. Сельскохозяйственное животное по п. 1, где разрушение целевого гена находится под контролем индуцируемой системы.

3. Животное по п. 1, где целевой ген выбран из группы, включающей DAZL, vasa, CatSper, KCNU1, DNAH8 и экспрессируемый в семенниках ген 11 (Tex11).

4. Животное по п. 1, где целевой ген находится на X-хромосоме, Y-хромосоме или аутосоме.

5. Животное по п. 1, где разрушение целевого гена селективно ингибирует образование мужской гаметы или женской гаметы.

6. Животное по п. 1, где целевой ген выбран из группы, включающей TENR, ADAM1a, ADAM2, ADAM, альфа-4, ген ATP2B4, ген субъединицы CatSper, CatSper1, CatSper2, CatSper3, Catsper4, CatSper-бета, CatSper-гамма, CatSper-дельта, гены кальмегина, комплексина-I, андрогенового рецептора клеток Сертоли, Gasz, Ra175, Cib1, Cnot7, Zmynd15, CKs2 и Smcr.

7. Животное по п. 1, где целевой ген необходим для сперматогенеза, при этом

разрушение гена селективно ингибирует сперматогенез.

8. Животное по п. 7, где целевой ген включает в себя экспрессируемый в семенниках ген 11 (Tex11).

9. Животное по п. 1, где целевой ген необходим для подвижности сперматозоида, слияния акросомы сперматозоида или сингамии сперматозоида, при этом разрушение целевого гена селективно ингибирует одно или более из подвижности сперматозоида, слияния акросомы сперматозоида или сингамии сперматозоида.

10. Животное по п. 9, где разрушение целевого гена селективно ингибирует подвижность сперматозоида, и ген выбран из группы, включающей TENR, ADAM1a, ADAM3, Atp1a4 и ATP2B4.

11. Животное по п. 9, где разрушение целевого гена селективно ингибирует слияние акросомы сперматозоида, и ген выбран из группы, включающей ADAM2, ADAM3, CatSper, ген кальмегина и ген комплексина-I.

12. Животное по любому из пп. 1-11, где животное выбрано из группы, включающей позвоночных, не являющихся человеком, приматов, не являющихся человеком, крупный рогатый скот, лошадь, свинью, овцу, курицу, птиц, кролика, коз, собаку, кошку и рыбу.

13. Животное по п. 1, неспособное продуцировать функциональный сперматозоид.

14. Животное по п. 13, где целевой ген включает в себя DAZL.

15. Животное по п. 1, являющееся реципиентом донорских клеток, которые дают начало функциональному донорскому сперматозоиду с гаплоидным донорским хромосомным набором.

16. Способ получения клеток животного, предусматривающий

введение в организм, выбранный из группы, включающей клетку, не являющуюся человеческой, и эмбрион, не являющийся человеческим, средства, которое специфично связывается с целевым хромосомным сайтом в клетке с разрушением гена для селективного нарушения гаметогенеза, при этом средство выбирают из группы, включающей целенаправленно воздействующую эндонуклеазу, РНК-направляемую нуклеазу и слитый белок на основе рекомбиназы.

17. Способ по п. 16, где средство представляет собой целенаправленно воздействующую эндонуклеазу и включает в себя TALEN или пару TALEN, которая содержит последовательность для специфичного связывания с целевым хромосомным сайтом.

18. Способ по п. 16 или 17, дополнительно предусматривающий введение нуклеиновой кислоты в организм, где последовательность нуклеиновой кислоты вводят в геном организма в целевом хромосомном сайте.

19. Способ по п. 16 или 17, где клетку выбирают из группы, включающей клетку *in vitro*, первичную клетку *in vitro*, зиготу, ооцит, гаметогенную клетку, клетку спермы, ооцит, стволовую клетку и зиготу.

20. Способ по п. 16 или 17, дополнительно предусматривающий введение матрицы нуклеиновой кислоты в клетку, при этом матрица имеет концы, которые являются в значительной степени гомологичными концам, образующимся при разрыве, где последовательность матрицы нуклеиновой кислоты вводят в геном организма в целевом хромосомном сайте.

21. Способ по п. 16, где животное выбирают из группы, включающей позвоночных, не являющихся человеком, приматов, не являющихся человеком, крупный рогатый скот, лошадь, свинью, овцу, курицу, птицу, кролика, коз, собаку, кошку, лабораторное животное и рыбу.

22. Способ по п. 16, где разрушаемый ген выбирают из группы, включающей DAZL, vasa, CatSper, KCNU1, DNAH8 и экспрессируемый в семенниках ген 11, TENR, ADAM1a, ADAM2, ADAM, альфа-4, ген ATP2B4, ген субъединицы CatSper, CatSper1, CatSper2,

CatSper3, Catsper4, CatSper-бета, CatSper-гамма, CatSper-дельта, гены кальмегина, комплексина-I, андрогенового рецептора клеток Сертоли, Gasz, Ra175, Cib1, Cnot7, Zmynd15, CKs2 и Smcp.

23. Клетка *in vitro*, содержащая средство, которое специфично связывается с целевым хромосомным сайтом в клетке и вызывает двунитевой разрыв ДНК с разрушением гена для селективного нарушения гаметогенеза, при этом средство выбрано из группы, включающей целенаправленно воздействующую эндонуклеазу, РНК-направляемую нуклеазу и слитый белок на основе рекомбиназы.

24. Клетка по п. 23, где средство представляет собой TALEN или пару TALEN, которая содержит последовательность для специфического связывания с целевым хромосомным сайтом и создает двунитевой разрыв в гене.

25. Клетка по п. 23, где средство включает в себя целенаправленно воздействующую нуклеазу и выбрано из группы, включающей нуклеазы с "цинковыми пальцами", Tal-эффекторные нуклеазы, РНК-направляемые нуклеазы и мегануклеазы.

26. Клетка по п. 23, 24 или 25, где хромосома представляет собой Y-хромосому.

27. Клетка по п. 23, где животное выбрано из группы, включающей позвоночных, не являющихся человеком, приматов, не являющихся человеком, крупный рогатый скот, лошадь, свинью, овцу, курицу, птицу, кролика, коз, собаку, кошку, лабораторное животное и рыбу.

28. Генетически модифицированное сельскохозяйственное животное, содержащее геномную модификацию в Y-хромосоме, при этом модификация включает в себя вставку, делецию или замену одного или более оснований в хромосоме.

29. Генетически модифицированное сельскохозяйственное животное, при этом животное содержит экзогенный ген на хромосоме, при этом ген находится под контролем элемента для экспрессии гена, который селективно активируется при гаметогенезе.

30. Животное по п. 29, где экзогенный ген селективно инактивирует ген, требующийся для получения потомков-самцов, и половое размножение животного дает только потомков-самок.

31. Животное по п. 29, где экзогенный ген селективно инактивирует ген, требующийся для получения потомков-самок, и половое размножение животного дает только потомков-самцов.

32. Животное по п. 30 или 31, где экзогенный ген экспрессирует фактор, который является летальным для клетки с разрушением тем самым только мужских или женских гамет.

33. Животное по п. 30 или 31, являющееся самцом или самкой, которое является генетически стерильным, с экзогенным геном, экспрессирующим фактор, который препятствует второму гену, являющемуся селективным в отношении сперматогенеза или оогенеза, соответственно, что тем самым предотвращает успешное половое размножение животного.

34. Животное по п. 33, где создание препятствий для второго гена селективно ингибирует подвижность сперматозоида, слияние акросомы сперматозоида или сингамию сперматозоида.

35. Генетически модифицированное животное, включающее в себя генетически бесплодное сельскохозяйственное животное-самца, которое образует функциональные донорские зрелые мужские половые клетки без продукции функциональных нативных зрелых мужских половых клеток.

36. Животное по п. 35, где животное при половом размножении производит потомство донора.

37. Животное по п. 35 или 36, где животное выбрано из группы, включающей

позвоночных, не являющихся человеком, приматов, не являющихся человеком, крупный рогатый скот, лошадь, свинью, овцу, курицу, птицу, кролика, коз, собаку, кошку, лабораторное животное и рыбу.

R U 2 0 1 5 1 5 6 8 0 1 A

R U 2 0 1 5 1 5 6 8 0 1 A