

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2022105597, 28.09.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
14.11.2016 US 62/421,516(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:
2019118283 13.06.2019

(43) Дата публикации заявки: 04.04.2022 Бюл. № 10

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"(71) Заявитель(и):
ТУЛДЖЕН ИНКОРПОРЕЙТЕД (KR)(72) Автор(ы):
КИМ, Сеок Джонг (KR),
СОНГ, Донг Бон (KR),
ХОНГ, Йонг Бин (KR),
ЧОИ, Бинг Ок (KR),
ЛИ, Даэ Йоунг (KR),
ЛИ, Дзунг Мин (KR)

(54) ИСКУССТВЕННО СОЗДАННАЯ СИСТЕМА УПРАВЛЕНИЯ ФУНКЦИЕЙ ШК

(57) Формула изобретения

1. Композиция, способная редактировать регуляторную область гена PMP22,
имеющую последовательность-мишень, в клетке, содержащая:

белок Cas9 или нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9; и

гидовую РНК, включающую crРНК и tracrРНК, или нуклеиновую кислоту,
кодирующую гидовую РНК,где указанный белок Cas9 происходит из *Streptococcus pyogenes* или *Campylobacter jejuni*,где указанная последовательность-мишень расположена в регуляторной области
гена PMP22,где указанная регуляторная область выбрана из области ТАТА-бокса, области
энхансера, области дистального энхансера В и области дистального энхансера С,где crРНК содержит гидовый домен, способный нацеливаться на последовательность-
мишень, и первый комплементарный домен,где указанный гидовый домен и первый комплементарный домен связаны
последовательно в направлении от 5' к 3',где указанный первый комплементарный домен и tracrРНК способны
взаимодействовать с белком Cas9 с образованием комплекса гидовая РНК-Cas.

2. Композиция по п.1,

где белок Cas9 представляет собой белок Cas9, полученный из *Streptococcus pyogenes*,

где первый комплементарный домен crРНК имеет последовательность 5'-

GUUUUAGAGCUA -3',

где tracrРНК имеет последовательность, которая состоит из 5' - UAGCAAGUUAAAAAU-
3', 5' - AAGGUAGUCCG-3' и 5' - UUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC-A
2022105597 AR U
2 0 2 2 1 0 5 5 9 7 A

R U 2 0 2 2 1 0 5 5 9 7 A

3', которые последовательно связаны от 5'-конца к 3'-концу.

3. Композиция по п.1,

где белок Cas9 представляет собой белок Cas9, полученный из *Campylobacter jejuni*,

где первый комплементарный домен crРНК имеет последовательность 5' -

AAGAAAUUUAAAAAGGGACUA AAAAU-3',

где tracrRNA имеет последовательность, которая состоит из 5' -

AAGAAAUUUAAAAAGGGACUA AAAAU -3', 5'-AAAGAGUUUGC-3' и 5'-

GGGACUCUGCGGGGUUACAAUCCCCUAAAACCGCUUUU-3', которые последовательно связаны от 5'-конца к 3'-концу.

4. Композиция по п.2 или 3,

где гидовая РНК представляет собой одну гидовую РНК, которая состоит из crРНК, линкер и tracrРНК, которые последовательно связаны от 5'-конца к 3'-концу,

где линкер представляет собой 5'-GAAA-3'.

5. Композиция по п.2,

где гидовый домен crРНК имеет последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 41-53 и SEQ ID NO: 143-150.

6. Композиция по п.3, где гидовый домен crРНК имеет последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 54-66.

7. Композиция по п.1, где указанная композиция включает гидовую РНК и белок Cas9 в форме рибонуклеопротеина.

8. Композиция по п.1, где указанная композиция находится в форме вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую гидовую РНК, и нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9.

9. Композиция по п.8, где указанный вектор выбран из группы, состоящей из плазмидного вектора, ретровируса, лентивируса, аденоизоассоциированного вируса (AAV), вируса осповакцины, поксвируса и вируса простого герпеса.

10. Способ редактирования регуляторной области, выбранной из области ТАТА-бокса, энхансерной области, дистальной энхансерной области В и дистальной энхансерной области С гена PMP22 в клетке, включающий:

введение в клетку композиции CRISPR/Cas9,

где указанная композиция CRISPR/Cas9 содержит:

белок Cas9 или нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9; и

гидовую РНК, включающую crРНК и tracrРНК, или нуклеиновую кислоту, кодирующую гидовую РНК,

где указанный белок Cas9 происходит из *Streptococcus pyogenes* или *Campylobacter jejuni*,

где указанная последовательность-мишень расположена в регуляторной области гена PMP22,

где указанная регуляторная область выбрана из области ТАТА-бокса, области энхансера, области дистального энхансера В и области дистального энхансера С,

где crРНК содержит гидовый домен, способный нацеливаться на последовательность-мишень, и первый комплементарный домен,

где указанный гидовый домен и первый комплементарный домен связаны последовательно в направлении от 5' к 3',

где указанный первый комплементарный домен и tracrРНК способны взаимодействовать с белком Cas9 с образованием комплекса гидовая РНК-Cas.

11. Способ по п.10,

где белок Cas9 представляет собой белок Cas9, полученный из *Streptococcus pyogenes*,

где первый комплементарный домен crРНК имеет последовательность 5' -

GUUUUAGAGCUA-3',

R U 2 0 2 2 1 0 5 5 9 7 A

где tracrRNA имеет последовательность, которая состоит из 5'-UAGCAAGUUAAAUAU-3', 5'-AAGGCUAGUCCG-3' и 5'-UUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC-3', которые последовательно связаны от 5'-конца к 3'-концу.

12. Способ по п.10,

где белок Cas9 представляет собой белок Cas9, полученный из *Campylobacter jejuni*,

где первый комплементарный домен crРНК имеет последовательность 5'-

AAGAAAUUUAAAAAGGGACUAAAUAU-3',

где tracrRNA имеет последовательность, которая состоит из 5'-

AAGAAAUUUAAAAAGGGACUAAAUAU-3', 5'-AAAGAGUUUGC-3' и 5'-

GGGACUCUGCGGGGUACAAUCCCCUAAAACCGCUUUU-3', которые последовательно связаны от 5'-конца к 3'-концу.

13. Способ по п.11 или 12,

где гидовая РНК представляет собой одну гидовую РНК, которая состоит из crРНК, линкер и tracrРНК, которые последовательно связаны от 5'-конца к 3'-концу,

где линкер представляет собой 5'-GAAA-3'.

14. Способ по п.11,

где гидовый домен crРНК имеет последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 41-53 и SEQ ID NO: 143-150.

15. Способ по п.12, где гидовый домен crРНК имеет последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 54-66.

16. Способ по п.10, где указанная композиция включает гидовую РНК и белок Cas9 в форме рибонуклеопротеина.

17. Способ по п.10, где указанная композиция находится в форме вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую гидовую РНК, и нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9.

18. Способ по п.17, где указанный вектор выбран из группы, состоящей из плазмидного вектора, ретровируса, лентивируса, аденоовириуса, аденоассоцииированного вируса (AAV), вируса осповакцины, поксвириуса и вируса простого герпеса.