

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 Дзоонг (KR),
СОНГ, Донг Вон (KR),
ХОНГ, Йонг Бин (KR),
ЧОИ, Биунг Ок (KR),
ЛИ, Дзае Йоунг (KR),
ЛИ, Дзунг Мин (KR)(54) **ИСКУССТВЕННО СОЗДАННАЯ СИСТЕМА УПРАВЛЕНИЯ ФУНКЦИЕЙ ШК**

(57) Формула изобретения

1. Композиция, способная редактировать регуляторную область гена RMP22, 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 RMP22,

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 tracrRNA имеет последовательность, которая состоит из 5' - UAGCAAGUAAAAU-3', 5'-AAGGCUAGUCCG-3' и 5' - UUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC-

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 crPHK имеет последовательность 5'-

AAGAAAUUUAAAAAGGGACUAAAAU-3',

где tracrRNA имеет последовательность, которая состоит из 5'-

AAGAAAUUUAAAAAGGGACUAAAAU -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 crPHK, линкер и tracrPHK, которые последовательно связаны от 5'-конца к 3'-концу,

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

5. Композиция по п.2,

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

6. Композиция по п.3, где гидовый домен crPHK 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, аденовируса, аденоассоциированного 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 crPHK и tracrPHK, 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 crPHK 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 tracrPHK 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 crPHK имеет последовательность 5'-GUUUUAGAGCUA-3',

А
2
0
2
2
1
0
5
5
9
7
А
R
U

Р
У
2
0
2
2
1
0
5
5
9
7
А

где tracrRNA имеет последовательность, которая состоит из 5'-UAGCAAGUAAAAU-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 crPНК имеет последовательность 5'-

AAGAAAUUAAAAAGGGACUAAAAU-3',

где tracrRNA имеет последовательность, которая состоит из 5'-

AAGAAAUUAAAAAGGGACUAAAAU-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 crPНК, линкер и tracrPНК, которые последовательно связаны от 5'-конца к 3'-концу,

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

14. Способ по п.11,

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

15. Способ по п.12, где гидовый домен crPНК 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, аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV), вируса осповакцины, поксвируса и вируса простого герпеса.

RU 2022105597 A

RU 2022105597 A