

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2022103641, 27.09.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

28.09.2017 US 62/564,478;

29.09.2017 US 62/565,868

(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:

2020114785 27.04.2020

(43) Дата публикации заявки: 18.03.2022 Бюл. № 8

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 Воо (KR),

ЛИ, Дзае Йоунг (KR),

ЛИ, Дзунг Мин (KR),

ЧО, Гю Бон (KR),

Пэ, Хи Сук (KR)

(54) **ИСКУССТВЕННАЯ МОДИФИКАЦИЯ ГЕНОМА ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА**

(57) Формула изобретения

1. Композиция, которая нацелена на последовательность-мишень в области ТАТА-бокса или энхансерной области гена PLP1, содержащая:

белок Cas9, происходящий из *Streptococcus pyogenes* или *Campylobacter jejuni*, или нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9; и

руководящую РНК, включающую руководящий cr-РНК и tracr-РНК, или нуклеиновую кислоту, кодирующую руководящую РНК;

где cr-РНК содержит руководящий домен, способный нацеливаться на последовательность-мишень, и первый комплементарный домен,

где руководящий домен и первый комплементарный домен последовательно связаны в направлении от 5' до 3',

где первый комплементарный домен и tracr-РНК способны взаимодействовать с белком Cas9 с формированием комплекса руководящая РНК-Cas.

2. Композиция по п. 1, где, когда белок Cas9 происходит из *Streptococcus pyogenes*, последовательность-мишень выбирают из SEQ ID NO: 56-93, где, когда белок Cas9 происходит из *Campylobacter jejuni*, последовательность-мишень выбирают из SEQ ID NO: 94-115.

3. Композиция по п.1, где, когда белок Cas9 происходит из *Streptococcus pyogenes*, первый комплементарный домен cr-РНК имеет последовательность 5'-GUUUUAGAGCUA-3' (SEQ ID NO: 296), и tracr-РНК имеет последовательность из последовательно связанных в направлении от 5' до 3' последовательностей 5'-UAGCAAGUAAAAU-3' (SEQ ID NO: 299), 5'-AAGGCUAGUCCG-3' (SEQ ID NO: 302) и 5'-UUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC-3' (SEQ ID NO: 304),

где, когда белок Cas9 происходит из *Campylobacter jejuni*, первый комплементарный домен cr-PHK имеет последовательность 5'-GUUUUAGUCCCUUUUUAAAUUUCUU-3' (SEQ ID NO: 297), и tracr-PHK имеет последовательность из последовательно связанных в направлении от 5' до 3' последовательностей 5'-AAGAAAUUUAAAAAGGGACUAAAAU-3' (SEQ ID NO: 300), 5'-AAAGAGUUUGC-3' (SEQ ID NO: 303) и 5'-GGGACUCUGCGGGGUACAAUCCCCUAAAACCGCUUUU-3' (SEQ ID NO: 305).

4. Композиция по п. 1, где руководящая РНК композиции представляет собой одноцепочечную руководящую РНК, в которой cr-PHK, линкер и tracr-PHK последовательно связаны в направлении от 5' до 3'.

5. Композиция по п. 4, где линкер имеет последовательность 5'-GAAA-3'.

6. Композиция по п. 1, где композиция содержит белок Cas9 и руководящую РНК в Форме рибонуклеопротеин (RNP).

7. Композиция по п. 1, композиция представлена в форме вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9, и нуклеиновую кислоту, кодирующую руководящую РНК.

8. Способ лечения болезни Пелициуса-Мерцбахера (PMD), включающий: введение субъекту композиции для редактирования гена PLP1,

где композиция содержит

белок Cas9, происходящий из *Streptococcus pyogenes* или *Campylobacter jejuni*, или нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9; и

где, когда белок Cas9 происходит из *Streptococcus pyogenes*, последовательность-мишень выбирают из SEQ ID NO: 56-93,

где, когда белок Cas9 происходит из *Campylobacter jejuni*, последовательность-мишень выбирают из SEQ ID NO: 94-115;

руководящую РНК, содержащую cr-PHK и tracr-PHK, или нуклеиновую кислоту, кодирующую руководящую РНК,

где cr-PHK содержит содержит руководящий домен, способный нацеливаться на последовательность-мишень, и первый комплементарный домен,

где руководящий домен и первый комплементарный домен последовательно связаны в направлении от 5' до 3',

где первый комплементарный домен и tracr-PHK способны взаимодействовать с белком Cas9 с формированием комплекса руководящая РНК-Cas.

9. Способ лечения PMD по п. 8, где композиция содержит белок Cas9 и руководящую РНК в Форме рибонуклеопротеин (RNP).

10. Способ лечения PMD по п. 8, композиция представлена в форме вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9, и нуклеиновую кислоту, кодирующую руководящую РНК.

11. Способ редактирования области ТАТА-бокса или энхансерной области гена PLP1 в клетке, включающий:

введение субъекту композиции для редактирования гена PLP1,

где композиция содержит

белок Cas9, происходящий из *Streptococcus pyogenes* или *Campylobacter jejuni*, или нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9; и

руководящую РНК, содержащую cr-PHK и tracr-PHK, или нуклеиновую кислоту, кодирующую руководящую РНК,

где cr-PHK содержит содержит руководящий домен, способный нацеливаться на последовательность-мишень, и первый комплементарный домен,

где руководящий домен и первый комплементарный домен последовательно связаны в направлении от 5' до 3',

где первый комплементарный домен и tracr-РНК способны взаимодействовать с белком Cas9 с формированием комплекса направляющая РНК-Cas.

12. Способ по п. 11, где, когда белок Cas9 происходит из *Streptococcus pyogenes*, последовательность-мишень выбирают из SEQ ID NO: 56-93,

где, когда белок Cas9 происходит из *Campylobacter jejuni*, the последовательность-мишень выбирают из SEQ ID NO: 94-115.

13. Способ по п. 11, где, когда белок Cas9 происходит из *Streptococcus pyogenes*, первый комплементарный домен cr-РНК имеет последовательность 5'-GUUUUAGAGCUA-3' (SEQ ID NO: 296), и tracr-РНК имеет последовательность из последовательно связанных в направлении от 5' до 3' последовательностей 5'-UAGCAAGUUAUAAU-3' (SEQ ID NO: 299), 5'-AAGGCUAGUCCG-3' (SEQ ID NO: 302) и 5'-UUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC-3' (SEQ ID NO: 304),

где, wherein, когда белок Cas9 происходит из *Campylobacter jejuni*, первый комплементарный домен cr-РНК имеет последовательность 5'-GUUUUAGUCCCUUUUUAUAAUUCUU-3' (SEQ ID NO: 297), и tracr-РНК имеет последовательность из последовательно связанных в направлении от 5' до 3' последовательностей 5'-AAGAAUUAUAAAAGGGACUAAAAU-3' (SEQ ID NO: 300), 5'-AAAGAGUUUGC-3' (SEQ ID NO: 303) и 5'-GGGACUCUGCGGGGUUACAAUCCCCUAAAACCGCUUUU-3' (SEQ ID NO: 305).

14. Способ по п. 11, где направляющая РНК композиции представляет собой одноцепочечную направляющую РНК, в которой cr-РНК, линкер и tracr-РНК последовательно связаны в направлении от 5' до 3'.

15. Способ по п. 14, где линкер одноцепочечной направляющей РНК имеет последовательность 5'-GAAA-3'.

16. Способ по п. 14, где композиция содержит белок Cas9 и направляющую РНК в Форме рибонуклеопротеин (RNP).

17. Способ по п. 11, где композиция представлена в форме вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, кодирующую белок Cas9, и нуклеиновую кислоту, кодирующую направляющую РНК.