

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

(21)(22) Заявка: 2019114035, 11.10.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

11.10.2016 US 62/406,689;

28.10.2016 US 62/414,266

(43) Дата публикации заявки: 13.11.2020 Бюл. № 32

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 13.05.2019

(86) Заявка РСТ:

US 2017/056178 (11.10.2017)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2018/071565 (19.04.2018)

Адрес для переписки:

123242, Москва, пл. Кудринская, д. 1, а/я 35,

"Михайлюк, Сороколат и партнеры -

патентные поверенные"

(71) Заявитель(и):

БЛУБЁРД БИО, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

ДЖАРДЖУР, Джордан (US),

ПОГСОН, Марк (US)

(54) **ВАРИАНТЫ ХОМИНГ-ЭНДОНУКЛЕАЗЫ ТКР α**

(57) Формула изобретения

1. Полипептид, содержащий вариант хоминг-эндонуклеазы (ХЭ) I-OnuI, который расщепляет сайт-мишень в гене Т-клеточного рецептора альфа (ТКР α) человека, причем указанный вариант содержит замены аминокислот: L26I, R28D, N32R, K34N, S35E, V37N, G38R, S40R, E42S, G44R, V68K, A70T, G73S, N75R, S78M, K80R, L138M, T143N, S159P, S176A, C180H, F182G, I186K, S188V, S190G, K191T, L192A, G193K, Q195Y, Q197G, V199R, S201A, T203S, K207R, Y223S, K225R, S233R, D236E и V238E любой из SEQ ID NO: 1-5, или биологически активный фрагмент указанного полипептида.

2. Полипептид, содержащий вариант хоминг-эндонуклеазы (ХЭ) I-OnuI, который расщепляет сайт-мишень в гене Т-клеточного рецептора альфа (ТКР α) человека, причем указанный вариант содержит замены аминокислот: L26I, R28D, N32R, K34N, S35E, V37N, G38R, S40R, E42S, G44R, V68K, A70T, G73S, N75R, S78M, K80R, L138M, T143N, S159P, S176A, E178D, C180H, F182G, I186K, S188V, S190G, K191T, L192A, G193K, Q195Y, Q197G, V199R, S201A, T203S, K207R, Y223S, K225R, S233R, D236E и V238E любой из SEQ ID NO: 1-5, или биологически активный фрагмент указанного полипептида.

3. Полипептид по п. 1 или 2, где в указанном биологически активном фрагменте отсутствуют 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 N-концевых аминокислот по сравнению с соответствующей ХЭ I-OnuI дикого типа.

4. Полипептид по п. 3, где в указанном биологически активном фрагменте

отсутствуют 4 N-концевые аминокислоты по сравнению с соответствующей ХЭ I-OnuI дикого типа.

5. Полипептид по п. 3, где в указанном биологически активном фрагменте отсутствуют 8 N-концевых аминокислот по сравнению с соответствующей ХЭ I-OnuI дикого типа.

6. Полипептид по п. 1 или 2, где в указанном биологически активном фрагменте отсутствуют 1, 2, 3, 4 или 5 С-концевых аминокислот по сравнению с соответствующей ХЭ I-OnuI дикого типа.

7. Полипептид по п. 6, где в указанном биологически активном фрагменте отсутствует С-концевая аминокислота по сравнению с соответствующей ХЭ I-OnuI дикого типа.

8. Полипептид по п. 6, где в указанном биологически активном фрагменте отсутствуют 2 С-концевые аминокислоты по сравнению с соответствующей ХЭ I-OnuI дикого типа.

9. Полипептид по любому из пп. 1–8, где указанный вариант ХЭ I-OnuI содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной в любой из SEQ ID NO: 7-8, или биологически активный фрагмент указанной последовательности.

10. Полипептид по любому из пп. 1–9, где указанный вариант ХЭ содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7, или биологически активный фрагмент указанной последовательности.

11. Полипептид по любому из пп. 1–9, где указанный вариант ХЭ содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8, или биологически активный фрагмент указанной последовательности.

12. Полипептид по любому из пп. 1–11, где указанный полипептид связывается с полинуклеотидной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 17.

13. Полипептид по любому из пп. 1–12, дополнительно содержащий ДНК-связывающий домен.

14. Полипептид по п. 13, где указанный ДНК-связывающий домен выбран из группы, состоящей из: ДНК-связывающего домена TALE и ДНК-связывающего домена типа «цинковый палец».

15. Полипептид по п. 14, где указанный ДНК-связывающий домен TALE содержит приблизительно 9,5 единиц повтора TALE, приблизительно 10,5 единиц повтора TALE, приблизительно 11,5 единиц повтора TALE, приблизительно 12,5 единиц повтора TALE, приблизительно 13,5 единиц повтора TALE, приблизительно 14,5 единиц повтора TALE или приблизительно 15,5 единиц повтора TALE.

16. Полипептид по п. 14 или 15, где указанный ДНК-связывающий домен TALE содержит 11,5 единиц повтора TALE и связывается с полинуклеотидной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19.

17. Полипептид по п. 14 или 15, где указанный ДНК-связывающий домен TALE содержит 10,5 единиц повтора TALE и связывается с полинуклеотидной последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 18.

18. Полипептид по любому из пп. 14–17, где указанный полипептид связывает и расщепляет полинуклеотидную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 20.

19. Полипептид по п. 14, где указанный ДНК-связывающий домен «цинковый палец» содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 мотивов «цинкового пальца».

20. Полипептид по любому из пп. 1–19, дополнительно содержащий пептидный линкер и конец-процессирующий фермент, или биологически активный фрагмент указанного фермента.

21. Полипептид по любому из пп. 1–20, дополнительно содержащий вирусный саморасщепляющий пептид 2А и конец-процессирующий фермент или биологически

активный фрагмент указанного фермента.

22. Полипептид по п. 20 или 21, где указанный конец-процессирующий фермент или биологически активный фрагмент указанного фермента обладает 5'-3'-экзонуклеазной, 5'-3'-щелочной экзонуклеазной, 3'-5'-экзонуклеазной, 5'-флэп-эндонуклеазной, геликазной или независимой от матрицы ДНК-полимеразной активностью.

23. Полипептид по любому из пп. 20–22, где указанный конец-процессирующий фермент содержит Treh2 или его биологически активный фрагмент.

24. Полипептид по любому из пп. 1–23, где указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 10 – 12, или биологически активный фрагмент указанной последовательности.

25. Полипептид по п. 24, где указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 10, или биологически активный фрагмент указанной последовательности.

26. Полипептид по п. 24, где указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 11, или биологически активный фрагмент указанной последовательности.

27. Полипептид по п. 24, где указанный полипептид содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 12, или биологически активный фрагмент указанной последовательности.

28. Полинуклеотид, кодирующий полипептид по любому из пп. 1–27.

29. мРНК, кодирующая полипептид по любому из пп. 1–27.

30. кДНК, кодирующая полипептид по любому из пп. 1–27.

31. Вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий полипептид по любому из пп. 1–27.

32. Клетка, содержащая полипептид по любому из пп. 1–27.

33. Клетка, содержащая полинуклеотид, кодирующий полипептид по любому из пп. 1–27.

34. Клетка, содержащая вектор по п. 31.

35. Клетка, отредактированная полипептидом по любому из пп. 1–27.

36. Клетка по любому из пп. 32–35, где указанная клетка представляет собой гемопоэтическую клетку.

37. Клетка по любому из пп. 32–36, где указанная клетка представляет собой Т-клетку.

38. Клетка по любому из пп. 32–37, где указанная клетка представляет собой CD3+, CD4+ и/или CD8+ клетку.

39. Клетка по любому из пп. 32–38, где указанная клетка представляет собой иммунную эффекторную клетку.

40. Клетка по любому из пп. 32–39, где указанная клетка представляет собой цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ), опухоль-инфильтрующие лимфоциты (ОИЛ) или хелперные Т-клетки.

41. Клетка по любому из пп. 32–39, где указанная клетка представляет собой клетку-природного киллера (natural killer, NK) или Т-клетку-природного киллера (natural killer T cell, NKT), NK).

42. Клетка по любому из пп. 32–41, где источник указанной клетки представляет собой моноклеональные клетки периферической крови, костный мозг, ткань лимфатических узлов, пуповинную кровь, ткань тимуса, ткань из участка инфекции, асцит, плевральный выпот, ткань селезенки или опухоли.