

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В  
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРОМ О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация  
Интеллектуальной Собственности  
Международное бюро

(43) Дата международной публикации  
04 июня 2020 (04.06.2020)



(10) Номер международной публикации  
**WO 2020/111983 A3**

- (51) Международная патентная классификация:  
*C12Q 1/68* (2018.01) *C12N 15/11* (2006.01)
- (21) Номер международной заявки: РСТ/RU2019/050229
- (22) Дата международной подачи:  
26 ноября 2019 (26.11.2019)
- (25) Язык подачи: Русский
- (26) Язык публикации: Русский
- (30) Данные о приоритете:  
2018141524 26 ноября 2018 (26.11.2018) RU
- (71) Заявитель: **АВТОНОМНАЯ НЕКОММЕРЧЕСКАЯ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫШЕ-  
ГО ОБРАЗОВАНИЯ СКОЛКОВСКИЙ ИНСТИ-  
ТУТ НАУКИ И ТЕХНОЛОГИЙ (AUTONOMOUS  
NON-PROFIT ORGANIZATION FOR HIGHER  
EDUCATION "SKOLKOVO INSTITUTE OF  
SCIENCE AND TECHNOLOGY")** [RU/RU]; ул. Но-  
вая, 100 Московская обл., Одинцовский р-н, Дер. Скол-  
ково, 143025, Moskovskaya obl., Odintsovskij r-n, Der.  
Skolkovo (RU).
- (72) Изобретатели: **СЕВЕРИНОВ, Константин Викто-  
рович (SEVERINOV, Konstantin Viktorovich)**; ул.  
Дмитрия Ульянова, д. 4, корп. 2, кв. 362 Москва,  
119333, Moscow (RU). **ШМАКОВ, Сергей Анатолье-  
вич (SHMAKOV, Sergey Anatolevich)**; Московская  
обл., ул. Пионерская, д. 14, кв. 15 Воскресенск, 140200,  
Voskresensk (RU). **АРТАМОНОВА, Дарья Николае-  
вна (ARTAMONOVA, Daria Nikolaevna)**; ул. Маршала  
Тимошенко, д. 9, кв. 59 Москва, 121359, Moscow (RU).  
**ГОРЯНИН, Игнатий Игоревич (GORYANIN, Ignatiy  
Igorovich)**; ул. Кировоградская, 16, здание 1, кв. 351  
Москва, 117587, Moscow (RU). **МУШАРОВА, Ольга  
Сергеевна (MUSHAROVA, Olga Sergeevna)**; ул. Ро-

гова, 7, стр. 2, кв. 289 Москва, 123098, Moscow (RU).  
**ПИСКУНОВА, Юлия Валерьевна (PISKUNOVA,  
Iuliia Valerevna)**; ул. Москвитина, д.3, корп.2, кв.  
108, Московский Москва, 142784, Moscow (RU).  
**ФЁДОРОВА, Яна Витальевна (FEDOROVA, Iana  
Vitalevna)**; Ленинградская обл., ул. Куприна, д.40,  
кв. 14, Гатчина, 188301, Gatchina (RU). **ЗЮБКО,  
Татьяна Игоревна (ZYUBKO, Tatyana Igorevna)**;  
ул. Яхтенная 3, стр. 1 Санкт-Петербург, 197374,  
St.Petersburg (RU). **ХОДОРКОВСКИЙ, Михаил Алек-  
сеевич (KHODORKOVSKIY, Mikhail Alekseevich)**;  
пр.Косыгина, д. 23, к. 1, кв. 268 Санкт-Петербург,  
195426, St.Petersburg (RU). **ПОБЕГАЛОВ, Георгий  
Евгеньевич (POBEGALOV, Georgii Evgenevich)**; ул.  
Партизана Германа, д.12, кв. 317 Санкт-Петербург,  
198205, St.Petersburg (RU). **АРСЕНИЕВ, Анатолий  
Николаевич (ARSENIEV, Anatolii Nikolaevich)**; пр-  
кт Новочеркасский, д.25, корп. 1, кв. 36 Санкт-Пе-  
тербург, 195112, St.Petersburg (RU). **СЕЛКОВА, По-  
лина Анатольевна (SELKOVA, Polina Anatolevna)**;  
Рес.Удмуртская, ул. Верхняя, д.15, кв. 72 Воткинск,  
427439, Votkinsk (RU). **ВАСИЛЬЕВА, Александра  
Андреевна (VASILEVA, Aleksandra Andreevna)**; ул.  
Партизана Германа, д. 41, кв. 144 Санкт-Петербург,  
198334, St.Petersburg (RU). **АРТАМОНОВА, Татья-  
на Олеговна (ARTAMONOVA, Tatiana Olegovna)**;  
ул. Наличная, д. 27, кв. 7 Санкт-Петербург, 199406,  
St.Petersburg (RU). **АБРАМОВА, Марина Викторо-  
вна (ABRAMOVA, Marina Viktorovna)**; пр. Непокорён-  
ных, д.8, корп. 2 Санкт-Петербург, 194021, St.Petersburg  
(RU).

(74) Агент: **КОТЛОВ, Дмитрий Владимирович  
(KOTLOV, Dmitry Vladimirovich)**; ООО "ЦИС "Скол-

(54) Title: DNA-CUTTING AGENT

(54) Название изобретения: СРЕДСТВО РАЗРЕЗАНИЯ ДНК

(57) Abstract: The present invention describes a novel bacterial nuclease of a CRISPR-Cas9 system from the bacterium *Clostridium cellulolyticum*, as well as the use of said nuclease for creating strictly specific two-strand cuts in a DNA molecule. The present nuclease exhibits unusual qualities and can be used as an instrument for introducing changes into strictly specified places in a genomic DNA sequence of single-celled and multi-celled organisms. The invention thus increases the universality of accessible CRISPR-Cas9 systems, which makes it possible to use Cas9 nuclease from various organisms in order to cut genomic and plasmid DNA in a large number of specific places and at wide ranges of temperatures. The invention also simplifies editing the genome of the biotechnologically relevant bacterium *Clostridium cellulolyticum*.

(57) Реферат: Настоящее изобретение описывает новую бактериальную нуклеазу системы CRISPR-Cas9 из бактерии *Clostridium cellulolyticum*, а также ее применение для образования строго специфичных двунитевых разрывов в молекуле ДНК. Данная нуклеаза обладает необычными свойствами и может быть использована в качестве инструмента для внесения изменений в строго определенных местах в последовательности геномной ДНК одноклеточных или многоклеточных организмов. Таким образом, достигается повышение универсальности доступных систем CRISPR-Cas9, что позволит использовать нуклеазы Cas9 из различных организмов для разрезания геномной или плазмидной ДНК в большем количестве специфических мест и при больших диапазонах температур. Также, достигается упрощение редактирования генома биотехнологически значимой бактерии *Clostridium cellulolyticum*.



WO 2020/111983 A3

ково", Территория инновационного центра "Сколково",  
дом 4, оф.402.1 Москва, 143026, Moscow (RU).

**(81) Указанные государства** (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

**(84) Указанные государства** (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Опубликована:**

- с отчётом о международном поиске (статья 21.3)
- до истечения срока для изменения формулы изобретения и с повторной публикацией в случае получения изменений (правило 48.2(h))
- с перечнем последовательностей в соответствии с Правилom 5.2(a)

**(88) Дата публикации отчёта о международном поиске:**  
23 июля 2020 (23.07.2020)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/RU 2019/050229

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		<i>C12Q 1/68 (2006.01)</i> <i>C12N 15/11 (2006.01)</i>	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC			
B. FIELDS SEARCHED			
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)			
C12Q 1/68, C12N 15/11			
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched			
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)			
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages		Relevant to claim No.
A	RU 2663354 C2 (TARGITDZHIN BAIOTEKNOLODZHIZ LTD) 03.08.2018		1-5
A	WO 2014/093661 A9 (THE BROAD INSTITUTE, INC. et al.) 19.06.2014		1-5
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.			
* Special categories of cited documents:		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance			
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date			
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)			
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed			
Date of the actual completion of the international search 26 April 2020 (26.04.2020)		Date of mailing of the international search report 21 May 2020 (21.05.2020)	
Name and mailing address of the ISA/ RU		Authorized officer	
Facsimile No.		Telephone No.	

**ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ**

Номер международной заявки

PCT/RU 2019/050229

<p><b>A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ</b>  <i>C12Q 1/68 (2006.01)</i>  <i>C12N 15/11 (2006.01)</i></p> <p>Согласно Международной патентной классификации МПК</p>											
<p><b>B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА</b></p> <p>Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)</p> <p style="text-align: center;">C12Q 1/68, C12N 15/11</p> <p>Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки</p> <p>Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)</p>											
<p><b>C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Категория*</th> <th>Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей</th> <th>Относится к пункту №</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>RU 2663354 C2 (ТАРГИТДЖИН БАЙОТЕКНОЛОДЖИЗ ЛТД) 03.08.2018</td> <td>1-5</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014/093661 A9 (THE BROAD INSTITUTE, INC. et al.) 19.06.2014</td> <td>1-5</td> </tr> </tbody> </table>			Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	A	RU 2663354 C2 (ТАРГИТДЖИН БАЙОТЕКНОЛОДЖИЗ ЛТД) 03.08.2018	1-5	A	WO 2014/093661 A9 (THE BROAD INSTITUTE, INC. et al.) 19.06.2014	1-5
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №									
A	RU 2663354 C2 (ТАРГИТДЖИН БАЙОТЕКНОЛОДЖИЗ ЛТД) 03.08.2018	1-5									
A	WO 2014/093661 A9 (THE BROAD INSTITUTE, INC. et al.) 19.06.2014	1-5									
<p><input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы C.      <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении</p>											
<table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&amp;” документ, являющийся патентом-аналогом</p> </td> </tr> </table>			<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p>	<p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&amp;” документ, являющийся патентом-аналогом</p>							
<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p>	<p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&amp;” документ, являющийся патентом-аналогом</p>										
<p>Дата действительного завершения международного поиска</p> <p style="text-align: center;">26 апреля 2020 (26.04.2020)</p>		<p>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</p> <p style="text-align: center;">21 мая 2020 (21.05.2020)</p>									
<p>Наименование и адрес ISA/RU:                  Федеральный институт промышленной собственности,                  Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59,                  ГСП-3, Россия, 125993                  Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37</p>		<p>Уполномоченное лицо:  <p style="text-align: center;">Плехоткина О.</p> <p>Телефон № +7 (495) 531-64-81</p> </p>									