



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2020129448, 08.02.2019

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

08.02.2018 US 62/628,016;

07.09.2018 US 62/728,226;

12.11.2018 US 62/758,786;

23.01.2019 US 62/795,937;

06.02.2019 US 62/802,092

(43) Дата публикации заявки: 09.03.2022 Бюл. № 7

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 08.09.2020

(86) Заявка РСТ:

US 2019/017273 (08.02.2019)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2019/157324 (15.08.2019)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спаская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

САНГАМО ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

ДИКЕЛВЕР, Расселл (US),

КРИВЕГА, Иван (US),

МИЛЛЕР, Джеффри К. (US),

ЧЖАН, Лей (US)

(54) СКОНСТРУИРОВАННЫЕ СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ДЛЯ МИШЕНИ НУКЛЕАЗЫ**(57) Формула изобретения**

1. Нуклеаза с доменами «цинковые пальцы» (ZFN), содержащая первую и вторую ZFN, при этом первая ZFN включает ZFN, обозначенную 71557, а вторая ZFN включает ZFN, обозначенную 71728.

2. Один или более полинуклеотидов, кодирующих первую и вторую ZFN по п. 1, причем необязательно один или более полинуклеотидов переносятся AAV векторами.

3. Один или более полинуклеотидов по п.2, причем первый полинуклеотид, кодирующий первую ZFN, включает AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 4, а второй полинуклеотид, кодирующий вторую ZFN, включает AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице.

5.

4. AAV вектор по п. 2 или 3, причем AAV вектор, кодирующий первую ZFN, содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO:43.

5. AAV вектор по п. 2 или 3, причем AAV вектор, кодирующий вторую ZFN, содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO:56.

6. Клетка, содержащая одну или более ZFN по п. 1, один или более полинуклеотидов

по любому из пп. 2 и 3 и/или один или более AAV векторов по любому из пп. 4 и 5, необязательно стволовая клетка или клетка-предшественник.

7. Фармацевтическая композиция, содержащая одну или более ZFN по п. 1, один или более полинуклеотидов по любому из пп. 2 и 3 и/или один или более AAV векторов по любому из пп. 4 и 5 и/или одну или более клеток по п. 6.

8. Применение одной или более ZFN, одного или более полинуклеотидов, одного или более AAV векторов, одной или более клеток и/или одной или более фармацевтических композиций по любому из предшествующих пунктов для расщепления эндогенного гена альбумина у субъекта.

9. Применение по п. 8, включающее, кроме того, введение донора, необязательно переносимого AAV вектором, субъекту из условия, чтобы донор интегрировался в расщепленный ген альбумина у субъекта.

10. Способ расщепления эндогенного гена альбумина в клетке субъекта, включающий введение одной или более ZFN по п. 1, одного или более полинуклеотидов по любому из пп. 2 и 3, одного или более AAV векторов по любому из пп. 4 и 5, одной или более клеток по п. 6 и/или одной или более фармацевтических композиций по п. 7 субъекту.

11. Набор, содержащий одну или более ZFN по п. 1, один или более полинуклеотидов по любому из пп. 2 и 3, один или более AAV векторов по любому из пп. 4 и 5, одну или более клеток по п. 6 и/или одну или более фармацевтических композиций по п. 7.

12. Композиция, содержащая

(а) первый полинуклеотид, кодирующий первую ZFN, обозначенную 71557, при этом первый полинуклеотид необязательно включает AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 4, или SEQ ID NO:43;

(b) второй полинуклеотид, кодирующий вторую ZFN, обозначенную 71728, при этом второй полинуклеотид необязательно включает AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 5, или SEQ ID NO:56; и

(с) донорный полинуклеотид, содержащий последовательность, кодирующую последовательность фактора IX (FIX).

13. Композиция по п. 12, причем донорный полинуклеотид представляет собой AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 6, необязательно последовательность, представленную в SEQ ID NO:59.

14. Композиция по п. 12 или 13, причем первый, второй и донорный полинуклеотиды переносятся отдельными AAV векторами.

15. Применение композиции по любому из пп. 12-14 для экспрессии трансгена FIX у субъекта, нуждающегося в этом, причем композицию вводят субъекту из условия, что ZFN расщепляет эндогенный ген альбумина у субъекта, последовательность FIX интегрируется в расщепленный ген альбумина, и у субъекта экспрессируется белок FIX.

16. Применение по п. 15, причем гемофилия лечится у субъекта после экспрессии белка FIX.

17. Способ экспрессии белка FIX у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту одной или более композиций по любому из пп. 12-14 из условия, что белок FIX экспрессируется в клетке.

18. Способ по п. 17, причем субъект страдает гемофилией, и экспрессия белка FIX лечит и/или предотвращает это заболевание.

19. Набор, содержащий одну или более композиций по любому из пп. 12-14.

2020. Композиция, содержащая

(а) первый полинуклеотид, кодирующий первую ZFN, обозначенную 71557, при этом первый полинуклеотид необязательно включает AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 4, или SEQ ID NO:43;

(b) второй полинуклеотид, кодирующий вторую ZFN, обозначенную 71728, при этом

второй полинуклеотид необязательно включает AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 5, или SEQ ID NO:56; и

(с) донорный полинуклеотид, содержащий последовательность, кодирующую последовательность идуронат-2-сульфатазы (IDS).

21. Композиция по п. 19, причем донорный полинуклеотид представляет собой AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 7, необязательно последовательность, представленную в SEQ ID NO:65.

22. Композиция по п. 20 или 21, причем первый, второй и донорный полинуклеотиды переносятся отдельными AAV векторами.

23. Применение композиции по любому из пп. 20-22 для экспрессии трансгена IDS у субъекта, нуждающегося в этом, причем композицию вводят субъекту из условия, что ZFN расщепляет эндогенный ген альбумина у субъекта, последовательность IDS интегрируется в расщепленный ген альбумина, и белок IDS экспрессируется у субъекта.

24. Применение по п. 23, причем MPS II лечится у субъекта после экспрессии последовательности IDS.

25. Способ экспрессии белка IDS у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту одной или более композиций по любому из пп. 20-22 из условия, что белок IDS экспрессируется в клетке.

26. Способ по п. 25, причем субъект страдает заболеванием MPS II, и экспрессия белка IDS лечит и/или предотвращает это заболевание.

27. Набор, содержащий одну или более композиций по любому из пп. 20-22.

28. Композиция, содержащая

(а) первый полинуклеотид, кодирующий первую ZFN, обозначенную 71557, при этом первый полинуклеотид необязательно включает AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 4, или SEQ ID NO:43;

(б) второй полинуклеотид, кодирующий вторую ZFN, обозначенную 71728, при этом второй полинуклеотид необязательно включает AAV вектор, содержащий последовательности, представленные в таблице 5, или SEQ ID NO:56; и

(с) донорный полинуклеотид, содержащий последовательность, кодирующую последовательность альфа-L-идуронидазы (IDUA).

29. Композиция по п. 28, причем донор содержит последовательности, представленные в таблице 8, необязательно последовательность, представленную в SEQ ID NO:72.

30. Композиция по п. 28 или 29, причем первый, второй и донорный полинуклеотиды переносятся отдельными AAV векторами.

31. Применение композиции по любому из пп. 28-30 для экспрессии трансгена IDUA у субъекта, нуждающегося в этом, причем композицию вводят субъекту из условия, что ZFN расщепляет эндогенный ген альбумина у субъекта, последовательность IDUA интегрируется в расщепленный ген альбумина, и у субъекта экспрессируется белок IDUA.

32. Применение по п. 31, причем MPS I лечится у субъекта после экспрессии последовательности IDUA.

33. Способ экспрессии белка IDUA у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту одной или более композиций по любому из пп. 28-30 из условия, что белок IDUA экспрессируется в клетке.

34. Способ по п. 33, причем субъект страдает заболеванием MPS I, и экспрессия белка IDUA лечит и/или предотвращает это заболевание.

35. Набор, содержащий одну или более композиций по любому из пп. 28-30.