

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(10) 国际公布号
WO 2023/193616 A1

(43) 国际公布日
2023 年 10 月 12 日 (12.10.2023) **WIPO | PCT**

(51) 国际专利分类号:
C12N 15/90 (2006.01) *C12N 5/10* (2006.01)
C12N 9/22 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/083728

(22) 国际申请日: 2023 年 3 月 24 日 (24.03.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202210355452.6 2022 年 4 月 6 日 (06.04.2022) CN

(71) 申请人: 广州瑞风生物科技有限公司(GUANGZHOU REFORGENE MEDICINE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省广州市黄埔区开源大道 188 号自编四栋 801 房, Guangdong 510700 (CN)。

(72) 发明人: 梁峻彬(LIANG, Junbin); 中国广东省广州市黄埔区开源大道 188 号自编四栋 801 房, Guangdong 510700 (CN)。徐辉(XU, Hui); 中国广东省广州市黄埔区开源大道 188 号自编四栋

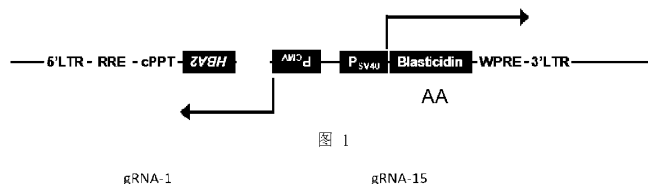
801 房, Guangdong 510700 (CN)。叶露(YE, Lu); 中国广东省广州市黄埔区开源大道 188 号自编四栋 801 房, Guangdong 510700 (CN)。林思妙(LIN, Simiao); 中国广东省广州市黄埔区开源大道 188 号自编四栋 801 房, Guangdong 510700 (CN)。

(74) 代理人: 广州新诺专利商标事务所有限公司等(GUANGZHOU SINO PATENT & TRADEMARK AGENT CO., LTD. et al.); 中国广东省广州市天河区黄埔大道西平云路 163 号军工楼九楼, Guangdong 510627 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: METHOD FOR REPAIRING HBA2 GENE MUTATIONS BY SINGLE BASE EDITING AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 单碱基编辑修复HBA2基因突变的方法及其应用



(57) Abstract: A method for repairing HBA2 gene mutations by single base editing and use thereof, belonging to the technical field of gene editing. The method comprises the following steps: contacting a single base editor and gRNA with an HBA gene sequence to be edited and repaired, deaminating the codon target cytosine base at CD142 in the HBA gene sequence, and converting the cytosine into thymine. According to the method, pathogenic mutation sites can be accurately edited without generating double-strand breaks and affecting chromatin conformation and genome stability, without generating random insertions of large-fragment genes into genomes, which have a low influence on cancer gene activation or tumor-inhibiting gene inactivation, and without generating random insertions/deletions at other sites of a genome. The expression of the repaired target gene is regulated by all regulatory elements of natural HBA2; therefore, the method is very safe and can also better balance the expression of α/β globin.

(57) 摘要: 一种单碱基编辑修复HBA2基因突变的方法及其应用, 属于基因编辑技术领域。此方法包括以下步骤: 将单碱基编辑器和gRNA与待编辑修复的HBA基因序列接触, 使HBA基因序列中的CD142处的密码子靶胞嘧啶碱基脱氨基, 转换为胸腺嘧啶。该方法能够对致病突变位点进行精准编辑, 不产生双链断裂, 不影响染色质构象和基因组稳定; 也不在基因组中产生大片段基因的随机插入, 对癌基因激活或肿瘤抑制基因失活具有低影响; 还不会在基因组其它位点产生随机的插入/缺失; 且修复的目的基因表达受天然的HBA2全部调控元件调控, 具有较高的安全, 也更能平衡 α/β 珠蛋白的表达。

[见续页]

SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧
亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, 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)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分 (细则5.2(a))。