权利要求书

1.一种用于RNA编辑的工程化组合物或系统，包含：

1） 经修饰的腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域或表达该经修饰的腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域的构建体，其中，所述腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域经过修饰具有催化胞苷脱氨基的活性，和

2） 将所述经修饰的腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域募集到靶标RNA的arRNA或包含该arRNA或包含其编码序列的构建体；

其中所述arRNA包含与所述靶标RNA杂交的互补RNA序列，并且所述arRNA募集所述腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域至靶标RNA致使靶标RNA中的靶标胞苷脱氨基。

2.权利要求1的工程化组合物或系统，其中所述腺苷脱氨酶在一个或多个位点发生突变修饰从而具有对胞苷脱氨使其转化成尿苷的活性。

3.权利要求2的工程化组合物或系统，其中所述腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域为ADAR2蛋白或其同源蛋白或其催化结构域。

4.权利要求3中的工程化组合物或系统，其中所述突变修饰包含： E488Q/V351G/S486A/T375S/S370C/P462A/N597I/L332I/I398V/K350I/M383L/D619G/S582T/V440I/S495N/K418E/S661T，其中所述突变修饰的氨基酸编号与NP_001103.1中的氨基酸编号一致。

5.权利要求1-4中任一项的工程化组合物或系统，其中所述arRNA与靶标RNA杂交时，其与靶标胞苷相对的靶向碱基为A、U、C、或G。

6.权利要求5中所述的工程化组合物或系统，其中所述靶向碱基为U或C。

7.权利要求1-6中任一项的工程化组合物或系统，其中：

所述arRNA在对应于靶标RNA的靶标碱基的上游、下游、或上游和下游的一个或多个位置包含非配对核苷酸，以形成和靶标碱基上游、下游、或上游和下游的一个或多个位置的核苷酸错配。

8.权利要求7中的工程化组合物或系统，其中所述arRNA靶向碱基的3’最近邻碱基与靶标RNA形成错配。

9.权利要求8中所述的工程化组合物或系统，其中所述arRNA与靶标RNA杂交时，所述靶向碱基的3’最近邻碱基与靶标RNA形成G-G错配。

10. 权利要求1-9中任一项的工程化组合物或系统，所述arRNA与靶标RNA杂交时，所述靶向碱基的5’最近邻碱基与靶标RNA不形成错配。

11. 权利要求10中的工程化组合物或系统，其中所述靶向碱基的5’最近邻碱基为U。

12. 权利要求9中的工程化组合物或系统，其中当所述arRNA与靶标RNA杂交时，与所述arRNA的靶向碱基的5’最近邻碱基相对的靶标RNA中的碱基优选次序从高到低为G或C、U或A。

13. 权利要求1-6中任一项的工程化组合物或系统，其中当所述arRNA与靶标RNA杂交时，所述靶标碱基及其5’和3’相邻碱基形成的靶标碱基三联体仅在靶标碱基处形成错配，其中所述靶标碱基三联体选自：ACG、ACC、UCC、UCG、CCC、CCG、UCA、UCU。

14. 权利要求1-13任一项的工程化组合物或系统，其中所述arRNA的长度>50nt。

15. 权利要求1-14任一项的工程化组合物或系统，其中所述arRNA中靶向碱基距离3’端及5’端的长度相等。

16. 权利要求1-14中任一项的组合物，其中所述arRNA中靶向碱基距离3’端的长度为45-5nt，40-5nt，35-10nt，25nt-15nt，24nt-11nt。

17. 权利要求1-14任一项的工程化组合物或系统，其中所述arRNA中靶向碱基距离5’端的长度为80-30nt，70-35nt，60-40nt，55nt-35nt，55nt-45nt。

18. 权利要求1-17任一项的工程化组合物或系统，其中所述arRNA是化学修饰的。

19. 权利要求18的工程化组合物或系统，其中所述化学修饰包括2’-O-甲基修饰或核苷酸间3’硫代修饰。

20. 一种使细胞中靶标RNA中的靶标胞嘧啶脱氨基的方法，包括将如下1）和2）导入所述细胞：

1） 经修饰的腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域或表达该经修饰的腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域的构建体，和

2） 将所述经修饰的腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域募集到所述靶标RNA的arRNA或包含该arRNA或包含其编码序列的构建体，其中，所述腺

苷脱氨酶蛋白或其催化结构域经过修饰具有催化胞苷脱氨基的活性，所述 arRNA 包含与所述靶标 RNA 杂交的互补 RNA 序列，并且所述 arRNA 募集所述腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域至靶标RNA致使靶标RNA中的靶标胞苷脱氨基。

21. 权利要求20的方法，其中，所述表达经修饰的腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域的构建体和包含所述 arRNA 的编码序列的构建体为同一构建体，或者所述表达经修饰的腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域的构建体和包含所述 arRNA 的编码序列的构建体为分开的构建体，所述分开的构建体被同时或分开地导入所述细胞。

22. 权利要求20或21的方法，其中所述腺苷脱氨酶在一个或多个位点发生突变修饰从而具有对胞苷脱氨使其转化成尿苷的活性。

23. 权利要求22的方法，其中所述腺苷脱氨酶蛋白或其催化结构域为ADAR2蛋白或其同源蛋白或其催化结构域。

24. 权利要求 23 中的方法，其中所述突变修饰包含：E488Q/V351G/S486A/T375S/S370C/P462A/N597I/L332I/I398V/K350I/M383L/D619G/S582T/V440I/S495N/K418E/S661T，其中所述突变修饰的氨基酸编号与 NP_001103.1 中的氨基酸编号一致。

25. 权利要求21-24中任一项方法，其中所述 arRNA 与靶标 RNA 杂交时，其与靶标胞苷相对的靶向碱基为A、U、C、或G。

26. 权利要求25中所述的方法，其中所述靶向碱基为U或C。

27. 权利要求21-26中任一项的方法，其中：

所述 arRNA 在对应于靶标 RNA 的靶标碱基的上游、下游、或上游和下游的一个或多个位置包含非配对核苷酸，以形成和靶标碱基上游、下游、或上游和下游的一个或多个位置的核苷酸错配。

28. 权利要求27中的方法，其中所述 arRNA 靶向碱基的3’最近邻碱基与靶标 RNA 形成错配。

29. 权利要求28中所述的方法，其中所述 arRNA 与靶标 RNA 杂交时，所述靶向碱基的3’最近邻碱基与靶标 RNA 形成 G-G 错配。

30. 权利要求21-29中任一项的方法，所述 arRNA 与靶标 RNA 杂交时，所述靶向碱基的5’最近邻碱基与靶标 RNA 不形成错配。

31. 权利要求 30 中的方法，其中所述靶向碱基的 5’最近邻碱基为 U。

32. 权利要求 29 中的方法，其中当所述 arRNA 与靶标 RNA 杂交时，与所述 arRNA 的靶向碱基的 5’最近邻碱基相对的靶标 RNA 中的碱基优选次序从高到低为 G 或 C、U 或 A。

33. 权利要求 21-26 中任一项的方法，其中当所述 arRNA 与靶标 RNA 杂交时，所述靶标碱基及其 5’和 3’相邻碱基形成的靶标碱基三联体仅在靶标碱基处形成错配，其中所述靶标碱基三联体选自：ACG、ACC、UCC、UCG、CCC、CCG、UCA、UCU。

34. 权利要求 21-33 任一项的方法，其中所述 arRNA 长度>50nt。

35. 权利要求 21-34 任一项的方法，其中所述 arRNA 中靶向碱基距离 3’端及 5’端的长度相等。

36. 权利要求 21-34 中任一项的方法，其中所述 arRNA 中靶向碱基距离 3’端的长度为 45-5nt，40-5nt，35-10nt，25nt-15nt，24nt-11nt。

37. 权利要求 21-34 任一项的方法，其中所述 arRNA 中靶向碱基距离 5’端的长度为 80-30nt，70-35nt，60-40nt，55nt-35nt，55nt-45nt。

38. 权利要求 21-37 任一项的方法，其中所述 arRNA 是化学修饰的。

39. 权利要求 38 的方法，其中所述化学修饰包括 2’-O-甲基修饰或核苷酸间 3’硫代修饰。

40. 权利要求 21-39 中任一项的方法，其中所述细胞为哺乳动物细胞。

41. 一种治疗由 T 到 C 突变引起的疾病的方法，包括使用如权利要求 21-39 中任一项的方法使包含所述 T 到 C 突变转录形成的信使 RNA 中靶标碱基 C 脱氨基，以校正所述突变。

42. 一种经修饰的腺苷脱氨酶蛋白，其中所述腺苷脱氨酶蛋白为 ADAR2，其包含对应于 Genebank 登记号为 NP_001103.1 的 ADAR2 中如下氨基酸突变：E488Q/V351G/S486A/T375S/S370C/P462A/N597I/L332I/I398V/K350I/M383L/D619G/S582T/V440I/S495N/K418E/S661T，或所述 NP_001103.1 的同源 ADAR2 蛋白相应位置的氨基酸突变，所述 ADAR2 蛋白经过所述突变修饰而具有催化胞苷脱氨基的活性。

43. 如权利要求 42 中所述的经修饰的腺苷脱氨酶蛋白用于催化胞苷脱氨基转化为尿苷的用途。