

权 利 要 求 书

1. 一种基于 LEAPER 技术靶向编辑靶标细胞中靶标 RNA 的方法，其中所述靶标 RNA 为 IDUA 基因转录本中含有 G 到 A 突变的 RNA，该方法包
5 括：

将包含用于编辑靶标 RNA 的腺苷脱氨酶募集 RNA(arRNA)或编码所述 arRNA 的构建体递送至所述靶标细胞，其中所述 arRNA 包含与所述靶标 RNA 杂交的互补 RNA 序列，并且其中所述 arRNA 能够募集作用于 RNA 的腺苷脱氨酶 (ADAR) 以使靶标 RNA 中的靶标腺苷(A)脱氨基。

10 2. 如权利要求 1 中所述的方法，其中所述 arRNA 包含与靶标 A 配对的碱基 C、A、U 或 G。

3. 如权利要求 1-2 中任一项所述的方法，其中所述 arRNA 长约 151-61 nt、131-66 nt、121-66 nt、111-66 nt、91-66 nt 或 81-66 nt。

4. 如权利要求 3 中所述的方法，其中所述 arRNA 中靶向碱基距离 3'端
15 的长度为 45-5nt, 40-5nt, 35-10nt, 25nt-15n 或 24nt-11nt。

5. 如权利要求 3 或 4 中所述的方法，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 或 55nt-45nt。

6. 如权利要求 1-5 中所述的方法，其中所述靶标细胞是人的细胞。

7. 权利要求 1-6 中任一项的方法，其中所述靶标 RNA 为包含
20 NM_000203.4(IDUA)-c.1205G-A (p.Trp402Ter)突变位点的 RNA。

8. 权利要求 1-7 中任一项的方法，其中所述 arRNA 包含以下的序列：
SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 13、SEQ
ID NO: 17、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO:
31 或 SEQ ID NO: 34。

25 9. 如权利要求 1-5 中任一项所述的方法，其中所述 arRNA 包含选自以下的序列：SEQ ID NO: 44 或 SEQ ID NO: 52。

10. 如权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述 arRNA 是经化学修饰的。

30 11. 如权利要求 10 中所述的方法，其中所述化学修饰包含 2-O'-甲基化 (2'-OMe) 或硫代磷酸酯修饰。

12. 如权利要求 11 中所述的方法,其中所述化学修饰选自如下的一项或多项:

- 序列前 3 个和后 3 个核苷酸分别被 2'-OMe 修饰,
前 3 个和后 3 个核苷酸间连接均为硫代磷酸酯键连接,
5 序列中全部 U 均被 2'-OMe 修饰,
靶向碱基的 3'最近邻碱基为 2'-OMe 修饰的 A,
靶向碱基的 5'最近邻碱基为 2'-OMe 修饰的 C,
靶向碱基与其 3'最近邻碱基和 5'最近邻碱基分别以硫代磷酸酯键连接,
前 5 个和后 5 个核苷酸分别被 2'-OMe 修饰, 和
10 前 5 个和后 5 个核苷酸间连接为硫代磷酸酯键连接。

13. 如权利要求 1-9 中任一项所述的方法,其中所述编码所述 arRNA 的构建体为线性核酸链、病毒载体或质粒。

14. 如权利要求 13 中所述的方法,其中所述病毒载体为腺相关病毒(AAV)载体或慢病毒表达载体。

- 15 15. 如权利要求 1-14 中任一项所述的方法,其中所述递送方式为电转染、脂质体转染、脂质-纳米颗粒(lipid nanoparticle, LNP)递送或感染。

16. 如权利要求 15 中所述的方法,通过 LNP 将包含用于编辑靶标 RNA 的腺苷脱氨酶募集 RNA(arRNA)或编码所述 arRNA 的构建体递送至所述靶标细胞。

- 20 17. 如权利要求 1-16 中任一项所述的方法,其中所述 arRNA 的递送浓度 ≥ 2.5 , ≥ 5 nM, ≥ 10 nM, ≥ 15 nM, 或 ≥ 20 nM。

18. 一种用于通过 LEAPER 技术靶向编辑靶标细胞中靶标 RNA 的 arRNA 或其编码序列,所述 arRNA 包含如下任一序列或由如下任一序列组成: SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 13、
25 SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 44 或 SEQ ID NO: 52。

19. 包含权利要求 18 所述 arRNA 或其编码序列的质粒、病毒载体、脂质体或脂质纳米颗粒。

20. 包含权利要求 18 所述 arRNA 或其编码序列、或权利要求 19 所述质粒、病毒载体、脂质体或脂质纳米颗粒的组合物或生物制品。
30

21. 一种治疗个体中 MPS IH 的方法, 包括用权利要求 1-17 中任一项所述的方法校正所述个体的靶标细胞中与 MPS IH 疾病相关的 G 到 A 的突变。

22. 权利要求 20 的方法, 其中所述突变为 NM_000203.4(IDUA)-c.1205G-A (p.Trp402Ter) 突变。

5 23. 如权利要求 20 或 21 所述的方法, 其中所述 arRNA 的使用频次为 ≥ 21 天/次、 ≥ 17 天/次、 ≥ 14 天/次或 ≥ 10 天/次。