

权利要求书

1. 一种基于 LEAPER 技术靶向编辑细胞中靶标 RNA 的方法,其中所述靶标 RNA 为 USH2A 基因转录本中含有 G 到 A 突变的 RNA,该方法包括:
- 5 将包含用于编辑靶标 RNA 的腺苷脱氨酶招募 RNA(arRNA)的构建体或编码所述 arRNA 的构建体导入所述细胞中,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 能够招募作用于 RNA 的腺苷脱氨酶 (ADAR) 以使靶标 RNA 中的靶标腺苷脱氨基。
2. 如权利要求 1 中所述的方法,其中所述靶标 RNA 为 mRNA 前体
- 10 (Pre-mRNA)。
3. 如权利要求 1 或 2 中所述的方法,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 长度选自 66nt-131nt 中的任意自然数。
- 15 5. 如权利要求 1-4 中任一项所述的方法,其中所述 arRNA 中靶向碱基距离 3'端的长度 ≥ 7 nt, ≥ 10 nt、 ≥ 15 nt,优选 16-55nt、20-50nt、25-45nt、25-35nt 或 25-30nt。
6. 如权利要求 1-5 中任一项所述的方法,其中所述 arRNA 中靶向碱基距离 5'端的长度 ≥ 25 nt, ≥ 30 、 ≥ 35 、 ≥ 45 ,优选 46-90nt、50-85nt、55-80nt、
- 20 60-75nt 或 65-70nt。
7. 权利要求 1-6 中任一项的方法,其中向所述 arRNA 引入与靶标序列中的靶标 A 配对的靶向碱基,该靶向碱基的优选次序从高到低依次为 C、A、U 或 G。
8. 如权利要求 1-7 中任一项的方法,其中所述靶标 RNA 为包含转录有
- 25 入 USH2A 基因 NM_206933.2(USH2A)_c.11864 G>A (p.Trp3955Ter)突变位点的 RNA。
9. 如权利要求 1-8 中任一项所述的方法,其中所述 arRNA 选自:SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、
- 30 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 6、SEQ

ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3 或 SEQ ID NO: 4。

10. 如权利要求 1-9 中任一项所述的方法，其中所述 arRNA 选自：SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8 或 SEQ ID NO: 9。

5 11. 如权利要求 1-10 中任一项所述的方法，其中所述构建体为线性核酸、病毒载体、或质粒。

12. 如权利要求 11 中所述的方法，其中所述病毒载体为腺相关病毒 (AAV) 载体或慢病毒载体。

10 13. 如权利要求 12 中所述的方法，其中所述 AAV 载体包装入 AAV2、AAV5 或 AAV8 衣壳后通过侵染导入所述细胞中。

14. 如权利要求 13 中所述的方法，所述 AAV 载体包装入 AAV8 衣壳后通过侵染导入所述细胞中。

15. 如权利要求 1-14 中任一项所述的方法，其中所述细胞为哺乳动物视神经细胞或听神经细胞。

15 16. 一种用于靶向编辑 USH2A 基因转录本中含有 G 到 A 突变的靶标 RNA 的 arRNA，包含选自如下的序列或由选自如下的序列组成：SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、或 SEQ ID NO: 4。

17. 包含权利要求 16 的 arRNA 的构建体或递送体。

18. 如权利要求 17 的构建体或递送体，其为质粒、病毒、脂质体、或脂质纳米颗粒。

25 19. 如权利要求 18 的构建体或递送体，其为腺相关病毒 (AAV) 或慢病毒。

20. 如权利要求 19 的构建体或递送体，其所述病毒为 AAV2、AAV5 或 AAV8。

21. 通过权利要求 1-15 中任一项的方法编辑获得的细胞。

30 22. 一种治疗个体中 Usher II 型综合征的方法，包括使用权利要求 1-15

中任一项所述的方法校正所述个体的细胞中与 Usher II 型综合征有关的 G 到 A 的突变。

23. 如权利要求 22 中所述的方法, 其包括将如权利要求 16 中所述的 arRNA 或如权利要求 17-20 中任一项所述的构建体或递送体导入受试者。

5 24. 权利要求 23 的方法, 其中将如权利要求 16 中所述的 arRNA 或如权利要求 17-20 中任一项所述的构建体或递送体导入受试者视网膜下腔中。

25. 如权利要求 16 中所述的 arRNA 或如权利要求 17-20 中任一项所述的构建体或递送体在制备治疗 Usher II 型综合征的药物中的用途。