



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2018103093, 30.06.2016

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
30.06.2015 US 62/187,027

(43) Дата публикации заявки: 31.07.2019 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 30.01.2018(86) Заявка РСТ:
US 2016/040378 (30.06.2016)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2017/004367 (05.01.2017)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Карпенко
Оксана Юрьевна

(71) Заявитель(и):

**РЕДЖЕНТС ОФ ЗЭ ЮНИВЕРСИТИ ОФ
МИННЕСОТА (US)**

(72) Автор(ы):

**ГАРРИ Дэниэл Дж. (US),
ГАРРИ Мэри Г. (US),
КОЯНО-НАКАГАВА Наоко (US)**(54) **ГУМАНИЗИРОВАННАЯ СКЕЛЕТНАЯ МЫШЦА**

(57) Формула изобретения

1. Клетка, морула или бластоциста отличного от человека животного, геном которой несет мутацию в обоих аллелях гена MYF5, гена MYOD, гена MRF4 или их комбинации такую, чтобы у клетки или бластоцисты отличного от человека животного отсутствовал функциональный белок MYF5, белок MYOD, белок MRF4 или их комбинация.

2. Клетка, морула или бластоциста отличного от человека животного по п. 1, у которой мутация представляет собой делецию гена MYF5, гена MYOD и/или гена MRF4.

3. Клетка, морула или бластоциста отличного от человека животного по п. 1 или 2, причем клетка, морула или бластоциста отличного от человека животного является свиньей, бычьей, лошадиной или козьей.

4. Химерное отличное от человека животное, его морула или бластоциста, экспрессирующие MYF5, MYOD и/или MRF4 человека и лишённые экспрессии MYF, MYOD и/или MRF4 указанного отличного от человека животного.

5. Химерное отличное от человека животное по п. 4, причем химерное отличное от человека животное производит клетки и/или ткань гуманизированной скелетной мышцы.

6. Химерная свинья, экспрессирующая экзогенный MYF5, MYOD, MRF4 свиньи или их комбинацию и лишённая экспрессии эндогенного MYF5, MYOD, MRF4 свиньи или их комбинации (химера свинья-свинья).

7. Химерное отличное от человека животное по п. 4 или 5, причем отличное от человека животное относится к свиньям, бычьим, лошадиным или козьим.

8. Способ получения химерного отличного от человека животного, экспрессирующего ген MYF5, ген MYOD, ген MRF4 человека или их комбинацию, предусматривающий

а) получение клетки отличного от человека животного, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, где обе копии гена MYF5, гена MYOD, гена MRF4 свиньи или их комбинации несут мутацию, которая предотвращает продуцирование функционального белка MYF5, белка MYOD, белка MRF4 или их комбинации у указанного отличного от человека животного;

б) создание морулы или бластоцисты отличного от человека животного, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, путем переноса ядра соматической клетки, предусматривающего слияние ядра из указанной клетки отличного от человека животного, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, полученной на этапе а), с энуклеированным ооцитом отличного от человека животного и активацию указанного ооцита к делению таким образом, чтобы формировалась бластоциста отличного от человека животного, нулевая по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации;

в) введение стволовых клеток человека в морулу или бластоцисту отличного от человека животного, нулевую по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, полученную на этапе б); и

г) имплантацию указанной морулы или бластоцисты, полученной на этапе в), отличному от человека животному, являющемуся псевдобеременной суррогатной матерью, с получением химерного отличного от человека животного, экспрессирующего MYF5, MYOD, MRF4 человека или их комбинацию.

9. Способ получения химерной свиньи, экспрессирующей экзогенный ген MYF5, ген MYOD, ген MRF4 или их комбинацию, предусматривающий

а) получение клетки свиньи, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, где обе копии эндогенного гена MYF5, гена MYOD, гена MRF4 свиньи или их комбинации несут мутацию, которая предотвращает продуцирование функционального эндогенного белка MYF5, белка MYOD, белка MRF4 или их комбинации;

б) создание бластоцисты свиньи, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, путем переноса ядра соматической клетки, предусматривающего слияние ядра из указанной клетки свиньи, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, полученной на этапе а), с энуклеированным ооцитом свиньи и активацию указанного ооцита к делению таким образом, чтобы формировалась бластоциста свиньи, нулевая по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации;

в) введение стволовых клеток свиньи в бластоцисту, нулевую по MYF5, MYOD, MRF4 свиньи или их комбинации, полученную на этапе б); и

г) имплантацию указанной бластоцисты, полученной на этапе в), свинье, являющейся псевдобеременной суррогатной матерью, с получением химерной свиньи, экспрессирующей экзогенный MYF5, MYOD, MRF4 свиньи или их комбинацию.

10. Способ получения клеток человеческих и/или гуманизированных скелетных мышц у отличного от человека животного, предусматривающий

а) получение клетки отличного от человека животного, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, где оба аллеля гена MYF5, гена MYOD, гена MRF4 отличного от человека животного или их комбинации несут мутацию, которая предотвращает продуцирование функционального белка MYF5, белка MYOD, белка MRF4 или их комбинации;

б) создание бластоцисты или морулы отличного от человека животного, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, путем переноса ядра соматической клетки, предусматривающего слияние ядра из указанной клетки отличного от человека животного, нулевой по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, полученной на этапе а), с энуклеированным ооцитом отличного от человека животного и активацию

указанного ооцита к делению таким образом, чтобы формировалась бластоциста отличного от человека животного, нулевая по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации;

с) введение донорских стволовых клеток человека в бластоцисту или морулу отличного от человека животного, нулевую по MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации, полученную на этапе b); и

d) имплантацию указанной бластоцисты или морулы, полученной на этапе с), отличному от человека животному, являющемуся псевдобеременной суррогатной матерью, с получением отличного от человека животного, экспрессирующего клетки человеческих и/или гуманизированных скелетных мышц.

11. Способ по п. 8 или 10, предусматривающий, что отличное от человека животное относится к свиным, бычьим, лошадиным или козьим.

12. Способ по п. 8 или 10, предусматривающий, что донорская стволовая клетка человека представляет собой тканеспецифическую стволовую клетку, плюрипотентную стволовую клетку, мультипотентную взрослую стволовую клетку, индуцированную плюрипотентную стволовую клетку или стволовую клетку пуповинной крови (UCBSC).

13. Способ по п. 8 или 10, предусматривающий, что индуцированная плюрипотентная клетка получена из фибробласта.

14. Отличное от человека животное, полученное согласно способу по любому из пп. 8-13.

15. Химерная скелетная мышца, ее ткань и/или клетки, полученные способом, предусматривающим

a) получение клетки отличного от человека животного, нулевой по гену MYF5, гену MYOD, гену MRF4 или их комбинации, где оба аллеля гена MYF5, гена MYOD, гена MRF4 отличного от человека животного или их комбинации несут мутацию и/или делецию, которая предотвращает продуцирование функционального белка MYF5, MYOD, MRF4 или их комбинации;

b) создание бластоцисты или морулы отличного от человека животного, нулевой по гену MYF5, гену MYOD, гену MRF4 или их комбинации, путем переноса ядра соматической клетки, предусматривающего слияние ядра из указанной клетки отличного от человека животного, нулевой по гену MYF5, гену MYOD, гену MRF4 или их комбинации, полученной на этапе a), с энуклеированным ооцитом отличного от человека животного и активацию указанного ооцита к делению таким образом, чтобы формировалась бластоциста отличного от человека животного, нулевая по гену MYF5, гену MYOD, гену MRF4 или их комбинации, или применение генного редактирования для получения бластоцисты отличного от человека животного, нулевой по гену MYF5, гену MYOD, гену MRF4 или их комбинации;

с) введение донорских стволовых клеток человека в бластоцисту отличного от человека животного, нулевую по гену MYF5, гену MYOD, гену MRF4 или их комбинации, полученную на этапе b); и

d) имплантацию указанной бластоцисты или морулы, полученной на этапе с), отличному от человека животному, являющемуся псевдобеременной суррогатной матерью, с получением отличного от человека животного, экспрессирующего химерную скелетную мышцу, ее ткань и/или клетки.

16. Химерная скелетная мышца человека/отличного от человека животного.

17. Ткань химерной скелетной мышцы человека/отличного от человека животного.

18. Клетки химерной скелетной мышцы человека/отличного от человека животного.

19. Химерная скелетная мышца, ее ткань и/или клетки по любому из пп. 15-18, причем отличным от человека животным является свинья.

20. Экзогенный орган, полученный путем комплементации бластоцисты, причем бластоциста содержит клетки, которые являются нуль-зиготными по гену MYF5, гену

MYOD, гену MRF4 или их комбинации.

RU 2018103093 A

RU 2018103093 A