

REIVINDICACIONES

1. Un método para inducir una ruptura bicatenaria (DSB) dentro del gen *TTR* o para modificar el gen *TTR in vitro*, que comprende suministrar una composición a una célula, en donde la composición comprende:

a. un ARN de guía, en donde el ARN de guía es uno de guía única (ARNsg) que comprende una secuencia

mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU (SEQ ID NO: 93), en donde * denota que el nucleótido se une al siguiente nucleótido con un enlace PS y una “m” minúscula denota que el nucleótido es sustituido con 2'-O-Me; y

b. un agente de unión al ADN guiado por ARN o un ácido nucleico que codifica un agente de unión al ADN guiado por ARN, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN es una nucleasa Cas.

2. Una composición para inducir una ruptura bicatenaria (DSB) dentro del gen *TTR* o para modificar el gen *TTR*, en donde la composición comprende:

a. un ARN de guía, en donde el ARN de guía es uno de guía única (ARNsg) que comprende una secuencia

mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU (SEQ ID NO: 93), en donde * denota que el nucleótido se une al siguiente nucleótido con un enlace PS y una “m” minúscula denota que el nucleótido es sustituido con 2'-O-Me; y

b. un agente de unión al ADN guiado por ARN o un ácido nucleico que codifica un agente de unión al ADN guiado por ARN, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN es una nucleasa Cas.

3. El método o la composición de la Reivindicación 1 o 2, en donde la composición da como resultado la edición del gen *TTR*.

4. El método o la composición de la Reivindicación 3, en donde la edición se calcula como un porcentaje de la población que se edita (porcentaje de edición), y en

donde el porcentaje de edición es entre 30 y 99% de la población.

5. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en donde el ARN de guía está dispuesto en una nanopartícula lipídica (LNP).

6. El método o la composición de la Reivindicación 5, en donde la LNP comprende (i) un lípido ionizable, (ii) lípido neutro, (iii) un lípido auxiliar, (iv) un lípido furtivo o mezclas de estos.

7. El método o la composición de la Reivindicación 6, en donde el lípido ionizable es el Lípido A (((9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-((((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propil)octadeca-9,12-dienoato o el Lípido B ((5-((dimetilamino)metil)-1,3-fenileno)bis(oxi))bis(octano-8,1-diil)bis(decanoato).

8. El método o la composición de la Reivindicación 6 o 7, en donde el lípido neutro es DSPC (diestearoilfosfatidilcolina).

9. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 6 a 8, en donde el lípido auxiliar es el colesterol.

10. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 6 a 9, en donde el lípido furtivo es PEG-DMG (polietilenglicol-dimiristoilglicerol).

11. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN es una endonucleasa Cas.

12. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN es una Cas9 endonucleasa.

13. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 12, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN o el ARNm que codifica un agente de unión al ADN guiado por ARN se modifica.

14. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 13, en

donde el agente de unión al ADN guiado por ARN es una nickasa.

15. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 14, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN modificado comprende una señal de localización nuclear (NLS).

16. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 15, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN es un Cas de un sistema CRISPR/Cas de tipo II.

17. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 16, en donde la composición es una composición farmacéutica y además comprende un portador o excipiente farmacéuticamente aceptables.

18. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 17, en donde la unión de extremos no homólogos (NHEJ) conduce a una mutación durante la reparación de la DSB en el gen *TTR*.

19. El método o la composición de la Reivindicación 18, en donde la NHEJ conduce a una delección o inserción de uno o más nucleótidos durante la reparación de la DSB en el gen *TTR*.

20. El método o la composición de la Reivindicación 19, en donde la delección o la inserción de uno o más nucleótidos induce un cambio de marco o mutación sin sentido en el gen *TTR*.

21. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, en donde el ARN de guía no produce indeles en el sitio o los sitios fuera de la diana que se producen en una región de codificación de proteínas en el genoma de los hepatocitos primarios humanos.

22. El método o la composición de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 21, en donde la composición o la composición farmacéutica se libera a través de una nanopartícula lipídica.

23. El método de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 22, en donde la célula es una célula hepática.

24. El método de la Reivindicación 23, en donde la célula hepática es un hepatocito.

ANR\ANR\ID-927248\WPC25334