

REIVINDICACIONES

1. Una composición para la edición de un gen *TTR* que comprende:
 - a) un ARN de guía única (ARNsg) que comprende de 5' a 3' (1) la secuencia de SEQ ID NO: 23 y (2) la secuencia de SEQ ID NO: 125, y en donde el ARNsg además comprende:
 - i) enlaces fosforotioato (PS) entre los primeros cuatro nucleótidos;
 - ii) enlaces fosforotioato (PS) entre los últimos cuatro nucleótidos;
 - iii) nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros tres nucleótidos en el extremo 5'; o
 - iv) nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los últimos tres nucleótidos en el extremo 3';
 - v) una combinación de dos o más de i) a iv); y
 - b) un agente de unión al ADN guiado por ARN o un ARNm 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. La composición de la Reivindicación 1, en donde la secuencia de SEQ ID NO: 125 comprende la estructura de nucleótidos 21 a 100 de la SEQ ID NO: 3 (GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUCCGUU AUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGm GmUmGmCmU*mU*mU*mU), en donde un * indica un enlace fosforotioato (PS) y una "m" minúscula denota que el nucleótido es modificado con 2'-O-Me.
3. La composición de la Reivindicación 1, en donde el ARNsg comprende la secuencia de SEQ ID NO: 87.

4. La composición de la Reivindicación 1, en donde el ARNsg comprende una secuencia que es desde 90% a 100% idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 87.
5. La composición de la Reivindicación 1, en donde la edición se calcula como un porcentaje de una población de células que se edita (porcentaje de edición), y el porcentaje de edición es entre 30 y 99% de la población.
6. La composición de la Reivindicación 1, en donde el ARNsg comprende la estructura de SEQ ID NO: 3.
7. La composición de la Reivindicación 6, en donde cada N en la SEQ ID NO: 3 es cualquier nucleótido natural o no natural, en donde los N forman la secuencia de guía.
8. La composición de la Reivindicación 1, en donde el ARNsg comprende una modificación adicional.
9. La composición de la Reivindicación 8, en donde la modificación adicional se selecciona de:
 - a. un nucleótido modificado con 2'-O-metil (2'-O-Me);
 - b. un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos; y
 - c. un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F).
10. La composición de la Reivindicación 1, en donde el ARNsg comprende además:
 - a. enlaces PS entre los primeros cuatro nucleótidos;
 - b. enlaces PS entre los últimos cuatro nucleótidos;
 - c. nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros tres nucleótidos en el extremo 5';

d. nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los últimos tres nucleótidos en el extremo 3'; o

e. una combinación de dos, tres o cuatro de a-d.

11. La composición de la Reivindicación 1, en donde el ARNsg comprende además:

a. enlaces PS entre los primeros cuatro nucleótidos;

b. enlaces PS entre los últimos cuatro nucleótidos;

c. nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros tres nucleótidos en el extremo 5'; y

d. nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los últimos tres nucleótidos en el extremo 3'.

12. La composición de la Reivindicación 1, en donde desde 25% a 100% de las posiciones en el ARN de guía son nucleótidos modificados.

13. La composición de la Reivindicación 1, en donde el ARNsg está asociado con una nanopartícula lipídica (LNP).

14. La composición de la Reivindicación 13, en donde la LNP comprende (i) un lípido ionizable, (ii) un lípido neutro, (iii) un lípido auxiliar, (iv) un lípido furtivo o una combinación de dos, tres o cuatro de (i)-(iv).

15. La composición de la Reivindicación 14, en donde uno de i) a v) se cumple:

i) 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)propiloctadeca-9,12-dienoato o el Lípido B ((5-((dimetilamino)metil)-1,3-fenileno)bis(oxi))bis(octano-8,1-diil)bis(decanoato); o

- ii) en donde el lípido neutro es DSPC; o
- iii) en donde el lípido auxiliar es colesterol; o
- iv) en donde el lípido furtivo es PEG-DMG; o
- v) una combinación de dos, tres o cuatro de i)-iv).

16. La composición de la Reivindicación 1, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN es Cas9.

17. La composición de la Reivindicación 16, en donde el ARNm que codifica el agente de unión al ADN guiado por ARN comprende un marco de lectura abierto (ORF) que comprende una secuencia que es desde 90% a 100% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 201, 204, 210, 214, 215, 223, 224, 250, 252, 254, 265, o 266.

18. Una formulación farmacéutica que comprende la composición de la Reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.

19. Una nanopartícula lipídica (LNP) que comprende la composición de la Reivindicación 1 y un agente de unión al ADN guiado por ARN o un ácido nucleico que codifica un agente de unión al ADN guiado por ARN.

20. Una célula que comprende la composición de la Reivindicación 1.

21. La célula de la Reivindicación 20 en donde la célula es un hepatocito.

22. La nanopartícula lipídica (LNP) de la Reivindicación 19, en donde el agente de unión al ADN guiado por ARN es Cas9.

23. La LNP de la Reivindicación 22, en donde el ARNsg comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 87.

24. La LNP de la Reivindicación 23, en donde la LNP comprende un lípido ionizable, un lípido neutro, un lípido auxiliar, o un lípido furtivo.

25. La LNP de la Reivindicación 24, en donde uno de i) a v) se cumple:

- i) el lípido ionizable es el Lípido A (((9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-((((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propiloctadeca-9,12-dienoato o el Lípido B ((5-((dimetilamino)metil)-1,3-fenileno)bis(oxi))bis(octano-8,1-diil)bis(decanoato); o
- ii) el lípido neutro es DSPC; o
- iii) el lípido auxiliar es colesterol; o
- iv) el lípido furtivo es PEG-DMG; o
- vi) una combinación de dos, tres o cuatro de i)-iv).

26. La LNP de la Reivindicación 25, en donde la LNP comprende Lípido A como (((9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-((((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propiloctadeca-9,12-dienoato, DSPC, colesterol y PEG-DMG.