

REIVINDICACIONES

1. Un método para editar un ARN objetivo en una célula hospedera *ex vivo*, caracterizado porque comprende introducir un ARN de reclutamiento de desaminasa (ARNd) o una construcción que codifica el ARNd en la célula hospedera, en el que el ARNd comprende una secuencia de ARN complementaria que hibrida con el ARN objetivo, en donde la secuencia de ARN comprende un desajuste de citidina o adenosina directamente opuesto a la adenosina objetivo en el ARN objetivo, y en donde el desajuste de citidina o adenosina se localiza al menos a 20 nucleótidos lejos del extremo 5' de la secuencia de ARN complementaria comprendida en el ARNd, y al menos a 5 nucleótidos lejos del extremo 3' de la secuencia de ARN complementaria comprendida en el ARNd, en donde el ARNd tiene de 50 a 260 nucleótidos de longitud, en donde el ARNd es capaz de reclutar una adenosina desaminasa que actúa sobre el ARN (ADAR) para desaminar una adenosina objetivo en el ARN objetivo, y en donde el ARNd no comprende un dominio de reclutamiento ADAR.
2. El método de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado además porque el ARNd tiene más de 70 nucleótidos de longitud.
3. El método de conformidad con la Reivindicación 2, caracterizado además porque el ARNd tiene una longitud de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 nucleótidos.
4. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, caracterizado además porque la ADAR es una expresada endógenamente por la célula hospedera.
5. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, caracterizado además porque la célula hospedera es una célula primaria.
6. El método de conformidad con la Reivindicación 5, caracterizado además porque la célula hospedera es una célula T.
7. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6, caracterizado además porque el ARNd no comprende un nucleótido químicamente modificado.

8. El método de conformidad con la Reivindicación 7, caracterizado además porque comprende introducir una construcción que codifica el ARNd en la célula hospedera, en la que la construcción es un vector viral o un plásmido.
9. El método de conformidad con la Reivindicación 8, caracterizado además porque el desajuste de citidina se localiza dentro de los 10 nucleótidos del centro de la secuencia complementaria en el ARNd.
10. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 9, caracterizado además porque la secuencia complementaria comprende además una o más guanosinas, cada una opuesta a una adenosina no objetivo en el ARN objetivo.
11. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10, caracterizado además porque la secuencia complementaria comprende dos o más nucleótidos con desajuste consecutivos opuestos a una adenosina no objetivo en el ARN objetivo.
12. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, caracterizado además porque el vecino más cercano 5' de la adenosina objetivo en el ARN objetivo es un nucleótido seleccionado entre U, C, A y G con la preferencia $U > C \approx A > G$ y el vecino más cercano 3' de la adenosina objetivo en el ARN objetivo es un nucleótido seleccionado entre G, C, A y U con la preferencia $G > C > A \approx U$.
13. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 12, caracterizado además porque la adenosina objetivo está en un motivo de tres bases seleccionado del grupo que consiste en UAG, UAC, UAA, UAU, CAG, CAC, CAA, CAU, AAG, AAC, AAA, AAU, GAG, GAC, GAA y GAU en el ARN objetivo.
14. El método de conformidad con la Reivindicación 13, caracterizado además porque el motivo de tres bases es UAG, y en el que el ARNd comprende una A directamente opuesta a la uridina en el motivo de tres bases, una citidina directamente opuesta a la adenosina objetivo y una citidina, guanosina o uridina directamente opuesta a la guanosina en el motivo de tres bases.

15. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 14, caracterizado además porque el ARN objetivo es un ARN seleccionado del grupo que consiste en un ARN pre-mensajero, un ARN mensajero, un ARN ribosómico, un ARN de transferencia, un ARN largo no codificante y un ARN pequeño.
16. El método de conformidad con la Reivindicación 15, caracterizado además porque el ARN objetivo es un ARN pre-mensajero.
17. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 16, caracterizado además porque comprende adicionalmente la introducción de un inhibidor de ADAR3 en la célula hospedera.
18. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 17, caracterizado además porque comprende adicionalmente la introducción de un estimulador de interferón en la célula hospedera.
19. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 18, caracterizado además porque comprende introducir una pluralidad de ARNd, cada uno de los cuales se dirige a un ARN objetivo diferente.
20. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 19, caracterizado además porque la eficiencia de editar el ARN objetivo es al menos del 5%.
21. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, caracterizado además porque el ARNd no induce una respuesta inmune.
22. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 21, caracterizado además porque comprende adicionalmente la introducción de una ADAR exógena en la célula hospedera.
23. El método de conformidad con la Reivindicación 22, caracterizado además porque ADAR es una ADAR1 que comprende una mutación E1008.
24. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 23, caracterizado además porque la desaminación de la adenosina objetivo en el ARN objetivo

da como resultado una mutación sin sentido, un codón de terminación temprano, empalme aberrante o empalme alternativo en el ARN objetivo, o la reversión de una mutación sin sentido, un codón de terminación temprana, empalme aberrante o empalme alternativo en el ARN objetivo.

25. El método de conformidad con la Reivindicación 24, caracterizado además porque la desaminación de la adenosina objetivo en el ARN objetivo da como resultado una mutación puntual, truncamiento, alargamiento y/o plegamiento incorrecto de la proteína codificada por el ARN objetivo, o una proteína funcional, de longitud completa, plegada correctamente y/o de tipo salvaje mediante la inversión de una mutación sin sentido, un codón de terminación temprana, empalme aberrante o empalme alternativo en el ARN objetivo.

26. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 25, caracterizado además porque la célula hospedera es una célula eucariota.

27. El método de conformidad con la Reivindicación 26, caracterizado además porque la célula hospedera es una célula de mamífero.

28. El método de conformidad con la Reivindicación 27, caracterizado además porque la célula hospedera es una célula humana o de ratón.

29. El método de conformidad con la Reivindicación 27 o 28, caracterizado además porque ADAR es ADAR1 y/o ADAR2.

30. Un ARN de reclutamiento de desaminasa (ARNd) para la desaminación de una adenosina objetivo en un ARN objetivo mediante el reclutamiento de una adenosina desaminasa que actúa sobre el ARN (ADAR), caracterizado que comprende una secuencia de ARN complementaria que se hibrida con el ARN objetivo y en donde la secuencia de ARN complementaria comprende un desajuste de citidina o adenosina directamente opuesto a la adenosina objetivo en el ARN objetivo, y en donde el desajuste de citidina o adenosina se localiza al menos a 20 nucleótidos lejos del extremo 5' de la secuencia de ARN complementaria comprendida en el ARNd, y al menos a 5 nucleótidos lejos del extremo 3' de la secuencia de ARN complementaria comprendida en el ARNd, en donde el ARNd tiene

de 50 a 260 nucleótidos de longitud, y en donde el ARNd no comprende un dominio de reclutamiento de ADAR.

31. Un ARNd caracterizado porque comprende la secuencia de ácido nucleico de cualquiera de las SEQ ID NOS: 25-44, 142-205, 341-342.

32. Una construcción caracterizada porque codifica el ARNd de la Reivindicación 30 o 31.

33. Una biblioteca caracterizada porque comprende una pluralidad de los ARNd de la Reivindicación 30 o 31 o la construcción de la Reivindicación 32.

34. Una composición caracterizada porque comprende el ARNd de la Reivindicación 30 o 31, la construcción de la Reivindicación 32 o la biblioteca de la Reivindicación 33.

35. Una célula hospedera caracterizada porque comprende el ARNd de la Reivindicación 30 o 31 o la construcción de la Reivindicación 32.