



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20211697 T1



HR P20211697 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTEJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

A61K 48/00 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
C12N 15/64 (2006.01)
C12N 15/66 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 04.02.2022.

(21) Broj predmeta: P20211697T

(22) Datum podnošenja : 03.03.2017.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US2017020828
Datum podnošenja međunarodne prijave: 03.03.2017.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 17760963.3
Datum podnošenja europske prijave patenta: 03.03.2017.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2017152149
Datum međunarodne objave: 08.09.2017.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 3423110 A1
Datum objave europske prijave patenta: 09.01.2019.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 3423110 B1
Datum objave europskog patenta: 11.08.2021.

(31) Broj prve prijave: 201662303047 P (32) Datum podnošenja prve prijave: 03.03.2016. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US
201662394720 P 14.09.2016. US
201662406913 P 11.10.2016. US

(73) Nositelji patenta: University of Massachusetts, One Beacon Street, 31st Floor, Boston, MA 02108, US
Voyager Therapeutics, Inc., 75 Sidney Street, Cambridge, MA 02139, US

(72) Izumitelji: Robert M. Kotin, 6510 Broxburn Dr., Bethesda, MD 20817, US
Sylvain Cecchini, 67 Adams St., Westborough, MA 01581, US

(74) Zastupnik: PRODUCTA d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: ZATVORENA LINEARNA DUPLEKS DNK ZA NEVIRUSNI PRIJENOS GENA

HR P20211697 T1

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Zatvorena linearna dupleks DNK (ceDNK) koja sadrži umetak nukleinske kiseline koji sadrži transgen, umetak je okružen s najmanje dvije sekvence ponavljanja obrnutog završetka (ITR) s adeno-povezanim virusom (AAV), pri čemu su najmanje dvije ITR sekvence asimetrične i kovalentno povezane jedna s drugom, pri čemu svaka sekvenca ima operativno terminalno mjesto razlučivanja i element za vezanje replikacijskog proteina kotrljajućeg kruga (RBE), pri čemu je prva ITR sekvenca prekinuta pomoću sekvence s unakrsnim krakom koja tvori dvije suprotne, po dužini simetrične stabljike-petlje nastale isprekidanim palindromskim sekvencama B-B' i C-C', pri čemu svaka od suprotnih po dužini simetričnih stabljika-petlji ima dio stabljike u rasponu duljine od 5 do 15 parova baza i dio petlje koji ima 2 do 5 neuparenih deoksiribonukleotida, pri čemu je druga ITR sekvenca prekinuta s odsječenom sekvencom s unakrsnim krakom koja ima jednu ili više delecija od između 11 i 20 nukleotida u području B-B' palindromske sekvence i/ili području C-C' palindromske sekvence.
2. ceDNK prema patentnom zahtjevu 1, naznačena time što
 - (i) ITR-ovi su u rasponu duljine od 40 do 1000 nukleotida, po izboru duljine 100 do 160 nukleotida;
 - (ii) sekvenca s unakrsnim krakom ima Gibbsovu slobodnu energiju (ΔG) odmatanja u fiziološkim uvjetima u rasponu od -12 kcal/mol do -30 kcal/mol, po izboru -20 kcal/mol do -25 kcal/mol;
 - (iii) RBE sadrži sekvencu 5'-GCTCGCTCGCTC-3'; i/ili
 - (iv) operativno terminalno mjesto razlučivanja sadrži sekvencu 5'-TT-3' i/ili 3' kraj operativnog terminalnog mjesta razlučivanja je 15 do 25 nukleotida od 5' kraja elementa za vezanje replikacijskog proteina kotrljajućeg kruga.
3. ceDNK prema patentnom zahtjevu 1 ili 2, naznačena time što odsječena sekvenca s unakrsnim krakom tvori dvije suprotne, po dužini asimetrične stabljike-petlje, po izboru pri čemu jedna od suprotnih, po dužini asimetrična stabljika-petlja ima dio stabljike u rasponu duljine od 8 do 10 parova baza i dio petlje koji ima 2 do 5 neuparenih deoksiribonukleotida ili jedna po dužini asimetričnu stabljika-petlja ima dio stabljike duljine manje od 8 parova baza i dio petlje koji ima 2 do 5 deoksiribonukleotida.
4. ceDNK prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 3, naznačena time što je umetak nukleinske kiseline konstruiran za ekspresiju proteina ili funkcionalne RNK.
5. ceDNK prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 4, naznačena time što je umetak nukleinske kiseline konstrukt bez promotora kao supstrat za uređivanje gena odabran od supstrata za TALENS, supstrata za nukleaze cinkovih prstiju (ZFN), supstrata za meganukleaze, supstrata za Cas9, te supstrata za drugi protein za uređivanje gena.
6. ceDNK prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 5, naznačena time što je sadržana unutar vektora.
7. Pripravak naznačen time što sadrži mnoštvo ceDNK prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 6, po izboru pri čemu je mnoštvo ceDNK povezano kraj s krajem, te po izboru nadalje sadrži farmaceutski prihvatljiv nosač.
8. Stanica domaćin koja sadrži ceDNK prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 6, po izboru pri čemu stanica domaćin nadalje sadrži replikacijski protein koji se selektivno veže za RBE nukleinske kiseline.
9. *In vitro* postupak za isporuku heterologne nukleinske kiseline u stanicu, te se postupak sastoji od isporuke u stanicu ceDNK prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 6.
10. ceDNK prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 6 naznačena time što se koristi u postupku isporuke heterologne nukleinske kiseline subjektu, pri čemu isporuka ne rezultira imunološkim odgovorom na nukleinsku kiselinu u subjektu, po izboru pri čemu je imunološki odgovor humoralni odgovor ili stanični odgovor.
11. ceDNK za uporabu prema patentnom zahtjevu 10, naznačena time što se isporuka događa jednom ili više puta.
12. Stanica domaćin prema patentnom zahtjevu 8 za uporabu u postupku isporuke heterologne nukleinske kiseline subjektu, naznačena time što se isporuka stanice domaćina događa jednom ili više puta.
13. Postupak pripreme nukleinskih kiselina, te postupak obuhvaća:
 - (i) uvođenje u pogodnu stanicu *in vitro* ceDNK nukleinske kiseline prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 6, po izboru pri čemu je pogodnu stanicu stanična linija insekata, stanična linija kvasca ili bakterijska stanična linija;
 - (ii) održavanje pogodne stanice pod uvjetima u kojima replikacijski protein kotrljajućeg kruga u pogodnoj stanici pokreće proizvodnju višestrukih kopija nukleinske kiseline, pri čemu pogodna stanica ne eksprimira virusne kapsidne proteine sposobne pakirati replikacijske kopije nukleinske kiseline u virusnu česticu, pri čemu je replikacijski protein kotrljajućeg kruga odabran iz skupine koju čine AAV78, AAV52, AAV Rep68 i AAV Rep40; i po izboru,
 - (iii) pročišćavanje višestrukih kopija nukleinske kiseline, pri čemu se pročišćavanje po izboru sastoji od dovodenja u kontakt nukleinske kiseline sa smolom silikagela.
14. Postupak prema patentnom zahtjevu 13, naznačen time što je replikacijski protein kotrljajućeg kruga kodiran vektorom *Autographa californica multiple nuclear polyhedrosis* virusa (AcMNPV) ili vektorom ekspresije bakulovirusa (BEV).
15. ceDNK prema bilo kojem od patentnih zahtjeva 1 do 6, naznačena time što ceDNK sadrži monomernu nukleinsku kiselinu koja sadrži jednu podjedinicu ili najmanje jednu multimernu nukleinsku kiselinu koja sadrži dvije ili više podjedinica, pri čemu svaka podjedinica sadrži umetak nukleinske kiseline na boku sa ITR sekvencama.