

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2018104098, 01.08.2016

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
03.08.2015 US 62/200,151

(43) Дата публикации заявки: 06.09.2019 Бюл. № 25

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 05.03.2018(86) Заявка РСТ:  
EP 2016/068315 (01.08.2016)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2017/021359 (09.02.2017)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,  
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Строкова  
Ольга Владимировна

(71) Заявитель(и):

**МАЙОДОПА ЛИМИТЕД (GB)**

(72) Автор(ы):

**МАКДОНАЛЬД Майкл (GB)**(54) **СИСТЕМНЫЙ СИНТЕЗ И РЕГУЛЯЦИЯ L-ДОФА**

## (57) Формула изобретения

## 1. Система экспрессии, содержащая:

первый полинуклеотид (N1), который при экспрессии кодирует полипептид GTP-циклогидролазы 1 (GCH1; ЕС 3.5.4.16) или его биологически активный фрагмент, или его вариант, причем указанный полинуклеотид функционально связан с первым промотором и при этом биологическая активность представляет собой ферментативную активность GCH1; и

второй полинуклеотид (N2), который при экспрессии кодирует полипептид тирозингидроксилазы (TH; ЕС 1.14.16.2) или его биологически активный фрагмент, или его вариант, причем указанный полинуклеотид функционально связан со вторым промотором и при этом биологическая активность представляет собой ферментативную активность TH; и

третий полинуклеотид (N3), который при экспрессии кодирует полипептид 6-пирувоилтетрагидроптерин-синтазы (PTPS, ЕС 4.2.3.12) или его биологически активный фрагмент, или его вариант, причем указанный полинуклеотид функционально связан с третьим промотором и при этом биологическая активность представляет собой ферментативную активность PTPS.

2. Система экспрессии по п. 1, отличающаяся тем, что система экспрессии содержит: полинуклеотид (N'), функционально связанный по меньшей мере с одним первым промотором; при этом N' при экспрессии кодирует первый полипептид (P1) и второй

другой полипептид (P2); и

второй полинуклеотид (N"), функционально связанный по меньшей мере с одним вторым промотором; при этом N" при экспрессии кодирует третий полипептид (P3); причем P1, P2 и P3 различны, и

при этом P1, P2 и P3 независимо выбирают из группы, состоящей из полипептидов GCH1, TH и PTPS, или их биологически активных фрагментов, или их вариантов.

3. Система экспрессии по п. 2, отличающаяся тем, что по меньшей мере один первый промотор представляет собой два промотора.

4. Система экспрессии по п. 3, отличающаяся тем, что два промотора являются идентичными.

5. Система экспрессии по п. 3, отличающаяся тем, что два промотора являются различными.

6. Система экспрессии по п. 2, дополнительно содержащая участок для внутренней посадки на рибосомы (IRES) между полинуклеотидными последовательностями, кодирующими P1 и P2.

7. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии содержит первый полинуклеотид, функционально связанный с первым промотором, при этом указанный первый полинуклеотид при экспрессии кодирует первый, второй и третий полипептид, при этом указанный первый, второй и третий полипептиды независимо выбирают из группы, состоящей из полипептида GCH1, полипептида TH и полипептида PTPS или их биологически активных фрагментов, или их вариантов.

8. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что полипептид GTP-циклогидролазы 1 (GCH1) по меньшей мере на 70% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 75% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 80% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 85% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 90% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 95% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 96% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 97% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 98% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, более предпочтительно на 100% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6.

9. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем,



11. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что полипептид GTP-циклогидролазы 1 (GCH1) или его биологически активный фрагмент, или его вариант по меньшей мере на 70% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6.

12. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что полипептид тирозингидроксилазы (TH) или его биологически активный фрагмент, или его вариант по меньшей мере на 70% идентичен полипептиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17.

13. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что полипептид 6-пирувоилтетрагидроптерин синтазы (PTPS) или его биологически активный фрагмент, или его вариант по меньшей мере на 70% идентичен SEQ ID NO: 41.

14. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что биологическая активность фрагмента или варианта представляет собой ферментативную активность соответствующего полноразмерного фермента, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 41.

15. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что биологически активный фрагмент представляет собой каталитический домен тирозингидроксилазы (SEQ ID NO: 12) и/или (SEQ ID NO: 40).

16. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный биологически активный вариант представляет собой мутированный полипептид тирозингидроксилазы, при этом один или более остатков S19, S31, S40 или S404 последовательности SEQ ID NO: 7 были заменены на другой аминокислотный остаток.

17. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид GTP-циклогидролазы 1 (GCH1) или его биологически активный фрагмент, или его вариант, содержит последовательность SEQ ID NO: 20.

18. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная вторая нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид тирозингидроксилазы (TH) или его биологически активный фрагмент, или его вариант, содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26 и 27.

19. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный первый, и указанный второй, и указанный третий промотор представляют собой различные промоторные последовательности.

20. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный первый, и указанный второй, и указанный третий промотор представляют собой идентичные промоторные последовательности.

21. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что промотор представляет собой промотор, селективный для клеток млекопитающих.

22. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что клетка млекопитающего представляет собой промотор, селективным к гепатоцитам, миоцитам и миобластам.

23. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный промотор представляет собой конститутивный промотор.

24. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный промотор представляет собой конститутивно активный промотор, выбранный из группы, состоящей из MCK, например, р-MCK1350, множественных копий энхансера гена медленного тропонина I человека, CAG, CBA, CMV, UbiC человека, RSV, EF-1 $\alpha$ , SV40, Mt1, pGK, H1 и/или U3.

25. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный промотор представляет собой индуцибельный промотор.

26. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный промотор представляет собой индуцибельный промотор, выбранный из группы, состоящей из Tet-On, Tet-Off, Mo-MLV-LTR, Mx1, прогестерона, RU486 и/или рапамицин-индуцибельного промотора.

27. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный промотор представляет собой LP1, hAPO-HCR и/или hAAT.

28. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный промотор является специфическим для мышечных клеток.

29. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный промотор представляет собой мышечно-специфический промотор, выбранный из группы, состоящей из:

a. мышечно-специфического комбинированного или двойного промотора с использованием элементов промотора CMV и SPc5-12,

b. синтетического мышечно-специфического промотора SPc5-12,

c. мышечно-специфического промотора креатинкиназы или его сокращенных вариантов, таких как dMCK или tMCK, или р-MCK1350, или множественных копий энхансера гена медленного тропонина I человека,

d. промотора CMV,

e. промотора мышечной хлорамфеникол-ацетилтрансферазы (CAT),

f. промотора скелетного альфа-актина 448,

g. любые активные аналоги или фрагменты любого из всех от a до f.

30. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид, который при экспрессии кодирует полипептид тирозингидроксилазы (TH; EC 1.14.16.2) или его биологически активный фрагмент, или его вариант, функционально связан с печеночно-специфическим промотором.

31. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид, который при экспрессии кодирует полинуклеотид, который при экспрессии кодирует полипептид GTP-циклогидролазы 1 (GCH1; EC 3.5.4.16) или его биологически активный фрагмент, или его вариант, функционально связан с печеночно-специфическим промотором.

32. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что промотор представляет собой печеночно-специфический промотор, выбранный из группы, состоящей из промотора/энхансера 1 печени (LP1) или его биологически активного фрагмента, или его варианта, и/или гибридного печеночно-специфического промотора (HLP) или его биологически активного фрагмента, или его варианта.

33. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что промотор представляет собой печеночно-специфический промотор, который по меньшей мере на 70% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 (HLP) и/или SEQ ID NO: 39 (LP1), более предпочтительно по меньшей мере на 75% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно по меньшей мере на 80% идентичен

полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно по меньшей мере на 85% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно по меньшей мере на 90% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно по меньшей мере на 95% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно по меньшей мере на 96% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно по меньшей мере на 97% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно по меньшей мере на 98% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39, более предпочтительно на 100% идентичен полинуклеотиду, выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38 и/или SEQ ID NO: 39.

34. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что профиль экспрессии указанного промотора регулируется системно применяемым агентом.

35. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии представляет собой плазмиду.

36. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии представляет собой «голую» плазмидную ДНК.

37. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что система экспрессии представляет собой плазмидную ДНК, упакованную внутри вектора.

38. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии представляет собой вектор.

39. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный вектор представляет собой вирусный вектор.

40. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии представляет собой синтетический вектор.

41. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии представляет собой космидный вектор.

42. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии представляет собой искусственную хромосому.

43. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид декарбоксилазы ароматических аминокислот (AADC).

44. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии имеет упаковочную емкость от 1 до 40 т.н., например, от 1 до 30 т.н., например, от 1 до 20 т.н., например, от 1 до 15 т.н., например, от 1 до 10, например, от 1 до 8 т.н., например, от 2 до 7 т.н., например, от 3 до 6 т.н., например, от 4 до 5 т.н.

45. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная система экспрессии имеет упаковочную емкость от 4,5 до 4,8 т.н.

46. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный вирусный вектор выбран из группы, состоящей из интегрирующих и неинтегрирующих вирусных векторов.

47. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем,

что указанный вирусный вектор выбран из группы, состоящей из аденоассоциированного вектора (AAV), лентивирусного вектора, аденовирусного вектора и ретровирусного вектора.

48. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный вирусный вектор выбран из группы, состоящей из аденоассоциированного вектора (AAV), аденовирусного вектора и ретровирусного вектора.

49. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный вирусный вектор представляет собой аденоассоциированный вектор (AAV).

50. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что AAV вектор представляет собой самокомплементарный AAV (scAAV) вектор.

51. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что нуклеотидная последовательность, кодирующая тирозингидроксилазу, представляет собой самокомплементарную последовательность.

52. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что аденоассоциированный вектор (AAV) выбран из группы, состоящей из векторов серотипов AAV5, AAV1, AAV6 и AAV2.

53. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что аденоассоциированный вектор (AAV) выбран из группы, состоящей из векторов серотипов AAV8, AAV5, AAV2, AAV9 и AAV7.

54. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что геном вектора AAV8 упаковывают в капсид AAV, отличный от капсида AAV8, такой как капсид AAV5, AAV9, AAV7, AAV6, AAV2 или AAV1.

55. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что геном вектора AAV7 упаковывают в капсид AAV, отличный от капсида AAV7, такой как капсид AAV8, AAV9, AAV5, AAV6, AAV2 или AAV1.

56. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что геном вектора AAV6 упаковывают в капсид AAV, отличный от капсида AAV6, такой как капсид AAV8, AAV9, AAV7, AAV5, AAV2 или AAV1.

57. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что геном вектора AAV5 упаковывают в капсид AAV, отличный от капсида AAV5, такой как капсид AAV8, AAV9, AAV7, AAV6, AAV2 или AAV1.

58. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что геном вектора AAV2 упаковывают в капсид AAV, отличный от капсида AAV2, такой как капсид AAV8, AAV9, AAV7, AAV6, AAV5 или AAV1.

59. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что геном вектора AAV1 упаковывают в капсид AAV, отличный от капсида AAV1, такой как капсид AAV8, AAV9, AAV7, AAV6, AAV2 или AAV5.

60. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что система экспрессии представляет собой вектор, способный инфицировать, трансфицировать или трансдуцировать клетку млекопитающего.

61. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная клетка млекопитающего представляет собой клетку печени, такую как гепатоцит.

62. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная клетка млекопитающего представляет собой мышечную клетку, такую как миоцит или предшественник мышечной клетки, такой как миобласт.

63. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный биологически активный фрагмент содержит по меньшей мере 100

смежных аминокислот, при этом любая аминокислота, указанная в выбранной последовательности, заменена на другую аминокислоту при условии, что не более 10 из аминокислотных остатков в последовательности также заменены.

64. Система экспрессии по п. 60, отличающаяся тем, что ферментативная активность фрагмента составляет по меньшей мере 10% от ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно по меньшей мере 20% от ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно по меньшей мере 30% от ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно по меньшей мере 40% от ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно по меньшей мере 50% от ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно по меньшей мере 60% от ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно по меньшей мере 70% ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно по меньшей мере 80% ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно по меньшей мере 95% ферментативной активности полноразмерного фермента, предпочтительно, по существу, такую же, как ферментативная активность полноразмерного фермента.

65. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что система экспрессии представляет собой вектор, выбранный из группы, включающей SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, и SEQ ID NO: 37.

66. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащая одну или более последовательностей полиаденилирования.

67. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная одна или более последовательностей полиаденилирования представляют собой последовательность полиаденилирования SV40.

68. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная последовательность или последовательности полиаденилирования SV40 имеет/имеют последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21 и 22.

69. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная последовательность полиаденилирования функционально связана с 3'-концом последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей указанную ТН и/или GCH-1.

70. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащая посттранскрипционный регуляторный элемент.

71. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный посттранскрипционный регуляторный элемент представляет собой посттранскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита лесного сурка (WPRE).

72. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный посттранскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита лесного сурка содержит последовательность SEQ ID NO: 28 или 29.

73. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащая интрон.

74. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащая интрон, отличающаяся тем, что указанный интрон функционально связан с 5'-концом транскрипта ТН и/или GCH-1.

75. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что соотношение определяют путем измерения активности экспрессируемых ферментов ТН и GCH1 в образце из отобранного хозяина, трансфицированного или трансдуцированного системой экспрессии по любому из предшествующих пунктов.



76. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что соотношение ТН:GCH1 определяют путем измерения количества тетрагидробиоптерина (BH<sub>4</sub>) в образце из отобранного хозяина, трансфицированного или трансдуцированного системой экспрессии по любому из предшествующих пунктов.

77. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что соотношение ТН:GCH1 определяют путем измерения количества мРНК, транскрибируемой в образце из отобранного хозяина, трансфицированного или трансдуцированного системой экспрессии по любому из предшествующих пунктов.

78. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что соотношение ТН:GCH1 определяют по количеству белка, экспрессируемого в образце из отобранного хозяина, трансфицированного или трансдуцированного системой экспрессии по любому из предшествующих пунктов.

79. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что система экспрессии представляет собой минимально интегрирующуюся систему экспрессии.

80. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что система экспрессии представляет собой вектор, способный инфицировать, трансфицировать или трансдуцировать клетку млекопитающего, такую как мышечная клетка, такую как миоцит или предшественник мышечной клетки, такой как миобласт.

81. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащая четвертый полинуклеотид.

82. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что четвертый полинуклеотид при экспрессии кодирует репортер, способный выявлять экспрессию по меньшей мере одного из полинуклеотидов, кодирующих ТН, GCH1 или PTPS.

83. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что репортер представляет собой флуоресцентный белок, такой как зеленый флуоресцентный белок (GFP) или улучшенный зеленый флуоресцентный белок (eGFP).

84. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что четвертый полинуклеотид при экспрессии кодирует транспортный белок, такой как везикулярный моноаминный переносчик (VMAT).

85. Система экспрессии по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что четвертый полинуклеотид при экспрессии кодирует ингибитор VMAT.

86. Выделенная клетка-хозяин, трансдуцированная или трансфицированная системой экспрессии по любому из предшествующих пунктов.

87. Клетка-хозяин по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой эукариотическую клетку.

88. Клетка-хозяин по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой клетку млекопитающего.

89. Клетка-хозяин по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой клетку примата.

90. Клетка-хозяин по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой клетку человека.

91. Клетка-хозяин по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанную клетку выбирают из группы, состоящей из гепатоцитов, миоцитов и миобластов.

92. Фармацевтическая композиция, содержащая систему экспрессии или клетку-хозяина по любому из предшествующих пунктов.

93. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов для медицинского применения.

94. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов для применения в способе лечения заболевания, связанного с дисфункцией катехоламиновой системы, причем указанную систему экспрессии вводят периферически.

95. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное применение включает получение и/или поддержание терапевтически эффективной концентрации L-ДОФА в крови.

96. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов для применения в способе поддержания терапевтически эффективной концентрации L-ДОФА в крови, причем указанный способ включает периферическое введение указанной системы экспрессии человеку, нуждающемуся в этом.

97. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающие дополнение введения системы экспрессии или клетки-хозяина системным введением терапевтически эффективного количества L-ДОФА.

98. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающие введение терапевтически эффективного количества тетрагидробиоптерина ( $\text{BH}_4$ ) или его аналога.

99. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающие введение терапевтически эффективного количества аналога тетрагидробиоптерина ( $\text{BH}_4$ ), отличающиеся тем, что аналог представляет собой сапроптерин.

100. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающие введение терапевтически эффективного количества ингибитора периферической декарбоксилазы.

101. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающие введение терапевтически эффективного количества ингибитора периферической декарбоксилазы, выбранного из группы, состоящей из бенсеразина и карбидопы.

102. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающие введение терапевтически эффективного количества ингибитора катехол-О-метилтрансферазы (COMT).

103. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающие введение терапевтически эффективного количества ингибитора катехол-О-метилтрансферазы (COMT), выбранного из группы, состоящей из толкапона, энтакапона и нитекапона.

104. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное введение  $\text{BH}_4$ , ингибиторов декарбоксилазы и/или ингибиторов COMT и их аналогов осуществляют путем системного введения.

105. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное введение  $\text{BH}_4$ , ингибиторов декарбоксилазы и/или ингибиторов COMT и их аналогов осуществляют путем энтерального или парентерального введения.

106. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное введение  $\text{BH}_4$ , ингибиторов декарбоксилазы и/или ингибиторов COMT и их аналогов осуществляют

путем перорального, внутривенного или внутримышечного введения.

107. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что периферическое введение системы экспрессии представляет собой парентеральное введение вне ЦНС.

108. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное введение  $\text{VH}_4$ , ингибиторов декарбоксилазы и/или ингибиторов СОМТ и их аналогов осуществляют путем изолированной перфузии конечностей.

109. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что периферическое введение системы экспрессии представляет собой внутримышечное введение.

110. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что периферическое введение системы экспрессии представляет собой внутривенное введение.

111. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что внутривенное введение системы экспрессии осуществляют в воротную вену.

112. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что периферическое введение системы экспрессии представляет собой внутрипеченочное введение.

113. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что периферическое введение системы экспрессии представляет собой подкожное введение.

114. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что дисфункция катехоламиновой системы представляет собой дефицит катехоламина.

115. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что дефицит катехоламина представляет собой дефицит дофамина.

116. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное заболевание, связанное с дисфункцией катехоламиновой системы, представляет собой заболевание, нарушение или поражение центральной и/или периферической нервной системы.

117. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное заболевание, нарушение или поражение центральной и/или периферической нервной системы представляет собой нейродегенеративное нарушение.

118. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное заболевание, связанное с дисфункцией катехоламиновой системы, представляет собой заболевание базальных ганглиев.

119. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, для применения в способе лечения заболевания, выбранного из группы, состоящей из болезни Паркинсона (PD); дискинезии, включая L-ДОФА-индуцированную дискинезию (LID); ДОФА-чувствительной дистонии; синдрома дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ); шизофрении; депрессии; сосудистого паркинсонизма; идиопатического тремора; хронического стресса; генетических аномалий дофаминовых рецепторов; хронического употребления препаратов опия, кокаина, алкоголя или марихуаны; недостаточности надпочечников, гипертензии; гипотензии; дефицита норадреналина; посттравматического стрессового

расстройства; патологического влечения к азартным играм, слабоумия, болезни диффузных телец Леви и наследственного дефицита тирозингидроксилазы.

120. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, для применения в способе лечения болезни Паркинсона, атипичной болезни Паркинсона, включая такие патологические состояния, как множественная системная атрофия, прогрессирующий надъядерный паралич, сосудистый или артериосклеротический паркинсонизм, лекарственный паркинсонизм, и дефицит GTP-циклогидролазы 1 и/или любые дистонические состояния, вызванные дефицитом дофамина.

121. Система экспрессии, клетка-хозяин или фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающиеся тем, что указанное нейродегенеративное нарушение представляет собой болезнь Паркинсона (PD).

122. Способ поддержания терапевтически эффективной концентрации L-ДОФА в крови пациента, причем указанный способ включает введение указанному пациенту системы экспрессии, клетки-хозяина или фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов.

123. Способ снижения, замедления и/или предотвращения возникновения индуцированной L-ДОФА дискинезии (LID), причем указанный способ включает периферическое введение системы экспрессии, клетки-хозяина или фармацевтической композиции по любому из пунктов пациенту, нуждающемуся в этом.

124. Способ получения и/или поддержания терапевтически эффективной концентрации L-ДОФА в крови, причем указанный способ включает периферическое введение системы экспрессии, клетки-хозяина или фармацевтической композиции.

125. Способ получения и/или поддержания терапевтически эффективной концентрации L-ДОФА в крови, причем указанный способ включает периферическое введение вектора, содержащего нуклеотидную последовательность, которая при экспрессии кодирует по меньшей мере один терапевтический полипептид, при этом по меньшей мере один терапевтический полипептид представляет собой полипептид тирозингидроксилазы (ТН; ЕС 1.14.16.2) или его биологически активный фрагмент, или его вариант.

126. Способ лечения или профилактики дисфункции катехоламиновой системы, такой как болезнь Паркинсона или индуцированной L-ДОФА дискинезии, причем указанный способ включает периферическое введение системы экспрессии, клетки-хозяина или фармацевтической композиции системы экспрессии, как определено в любом из предшествующих пунктов.

127. Способ по п. 126, отличающийся тем, что систему экспрессии вводят посредством изолированной перфузии конечностей.

128. Способ по п. 127, отличающийся тем, что изолированная перфузия конечностей включает по меньшей мере один этап инъекции системы экспрессии в мышцу или в вену.

129. Способ по любому из пп. 125-128, отличающийся тем, что систему экспрессии, клетку-хозяина или фармацевтическую композицию вводят по меньшей мере дважды в мышцу.

130. Способ по любому из пп. 125-128, отличающийся тем, что систему экспрессии, клетку-хозяина или фармацевтическую композицию вводят по меньшей мере один раз в вену.

131. Набор, содержащий систему экспрессии, клетку-хозяина и/или фармацевтическую композицию по любому из предшествующих пунктов, и инструкции по применению.