



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ(21)(22) Заявка: **2011122615/10, 03.11.2009**

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
05.11.2008 US 61/198,327(43) Дата публикации заявки: **20.12.2012 Бюл. № 35**(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: **06.06.2011**(86) Заявка РСТ:
US 2009/063024 (03.11.2009)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2010/053883 (14.05.2010)Адрес для переписки:
**129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"**(71) Заявитель(и):
МЕРК ШАРП ЭНД ДОМЭ КОРП. (US)(72) Автор(ы):
**ЯГОДИЧ Мэри К. (US),
СИТРОН Майкл П. (US),
ДИСТЕФАНО Дэниел Дж. (US),
КРАХ Дэвид Л. (US),
ЛЯН Сяопин (US)****(54) ЖИВОЙ АТТЕНУИРОВАННЫЙ РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНЫЙ ВИРУС****(57) Формула изобретения**

1. Живой аттенуированный респираторно-синцициальный вирус (RSV), содержащий вирусный геном, где вирусный геном кодирует белки, содержащие одну или несколько аминокислот, выбранных из группы, состоящей из: глутаминовой кислоты в положении 204 белка, кодируемого геном G; глутаминовой кислоты в положении 205 белка, кодируемого геном G; аланина в положении 211 белка, кодируемого геном G; глутаминовой кислоты в положении 213 белка, кодируемого геном G; глицина в положении 221 белка, кодируемого геном G; глутаминовой кислоты в положении 223 белка, кодируемого геном G; глицина в положении 232 белка, кодируемого геном G; лизина в положении 294 белка, кодируемого геном F; глицина в положении 486 белка, кодируемого геном F; аланина в положении 148 белка, кодируемого геном L; и фенилаланина в положении 2054 белка, кодируемого геном L.

2. Аттенуированный RSV по п.1, где вирусный геном, кодирует белки, содержащие лизин в положении 294 белка, кодируемого геном F, глицин в положении 486 белка, кодируемого геном F, аланин в положении 148 белка, кодируемого геном L, и фенилаланин в положении 2054 белка, кодируемого геном L.

3. Аттенуированный RSV по п.2, где белки, кодируемые генами F и L, содержат аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 95% идентичны аминокислотным последовательностям SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 24,

соответственно.

4. Аттенуированный RSV по п.3, где белки, кодируемые генами F и L, состоят из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 24, соответственно.

5. Аттенуированный RSV по любому из предшествующих пунктов, где вирусный геном содержит гены F и L, которые по меньшей мере на 95% идентичны нуклеотидным последовательностям SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 23, соответственно.

6. Аттенуированный RSV по п.5, где вирусный геном содержит гены F и L, состоящие из нуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 23, соответственно.

7. Аттенуированный RSV по п.1, где вирусный геном, кодирует белки, содержащие глутаминовую кислоту в положении 204 белка, кодируемого геном G, глутаминовую кислоту в положении 205 белка, кодируемого геном G, аланин в положении 211 белка, кодируемого геном G, глутаминовую кислоту в положении 213 белка, кодируемого геном G, глицин в положении 221 белка, кодируемого геном G, глутаминовую кислоту в положении 223 белка, кодируемого геном G, глицин в положении 232 белка, кодируемого геном G, лизин в положении 294 белка, кодируемого геном F, глицин в положении 486 белка, кодируемого геном F, аланин в положении 148 белка, кодируемого геном L, и фенилаланин в положении 2054 белка, кодируемого геном L.

8. Аттенуированный RSV по п.7, где белки, кодируемые генами G, F и L, содержат аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 95% идентичны аминокислотным последовательностям SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 24, соответственно.

9. Аттенуированный RSV по п.8, где белки, кодируемые генами G, F и L, состоят из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 24, соответственно.

10. Аттенуированный RSV по п.5, где вирусный геном дополнительно содержит один или несколько нуклеотидов, выбранных из группы, состоящих из аденина в положении нуклеотида 162 гена NS1, аденина в положении нуклеотида 327 гена NS2, гуанина в положении нуклеотида 630 гена G, гуанина в положении нуклеотида 654 гена G, гуанина в положении нуклеотида 666 гена G и гуанина в положении нуклеотида 675 гена G.

11. Аттенуированный RSV по п.10, где вирусный геном содержит аденин в положении нуклеотида 162 гена NS1, аденин в положении нуклеотида 327 гена NS2, гуанин в положении нуклеотида 630 гена G, гуанин в положении нуклеотида 654 гена G, гуанин в положении нуклеотида 666 гена G и гуанин в положении нуклеотида 675 гена G.

12. Аттенуированный RSV по п.11, где вирусный геном содержит гены NS1, NS2, G, F и L, которые по меньшей мере на 95% идентичны нуклеотидным последовательностям SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 23, соответственно.

13. Аттенуированный RSV по п.12, где вирусный геном содержит гены NS 1, NS2, G, F и L, состоящие из нуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 23, соответственно.

14. Живой аттенуированный респираторно-синцитиальный вирус (RSV), содержащий вирусный геном, содержащий по сравнению с вирусным геномом неаттенуированного RSV одну или несколько нуклеотидных мутаций, где одна или несколько нуклеотидных мутаций приводят к одной или нескольким аминокислотным мутациям, и где одна или несколько аминокислотных мутаций находятся в положениях аминокислот, выбранных из группы, состоящей из положений 204, 205, 211, 213, 221, 223 и 232, каждого белка, кодируемого геном G; положения 294 и 486,

каждого белка, кодируемого геном F; и положения 148 и 2054, каждого белка, кодируемого геном L.

15. Аттенуированный RSV по п.14, где аминокислотная мутация в положении 204 белка, кодируемого геном G, соответствует глутаминовой кислоте, аминокислотная мутация в положении 205 белка, кодируемого геном G, соответствует глутаминовой кислоте, аминокислотная мутация в положении 211 белка, кодируемого геном G, соответствует аланину, аминокислотная мутация в положении 213 белка, кодируемого геном G, соответствует глутаминовой кислоте, аминокислотная мутация в положении 221 белка, кодируемого геном G, соответствует глицину, аминокислотная мутация в положении 223 белка, кодируемого геном G, соответствует глутаминовой кислоте, аминокислотная мутация в положении 232 белка, кодируемого геном G, соответствует глицину, аминокислотная мутация в положении 294 белка, кодируемого геном F, соответствует лизину, аминокислотная мутация в положении 486 белка, кодируемого геном F, соответствует глицину, аминокислотная мутация в положении 148 белка, кодируемого геном L, соответствует аланину и аминокислотная мутация в положении 2054 белка, кодируемого геном L, соответствует фенилаланину.

16. Аттенуированный RSV по п.15, где аминокислотная мутация в положении 204 белка, кодируемого геном G, представляет собой Lys204Glu, аминокислотная мутация в положении 205 белка, кодируемого геном G, представляет собой Lys205Glu, аминокислотная мутация в положении 211 белка, кодируемого геном G, представляет собой Thr211Ala, аминокислотная мутация в положении 213 белка, кодируемого геном G, представляет собой Lys213Glu, аминокислотная мутация в положении 221 белка, кодируемого геном G, представляет собой Lys221Gly, аминокислотная мутация в положении 223 белка, кодируемого геном G, представляет собой Lys223Glu, аминокислотная мутация в положении 232 белка, кодируемого геном G, представляет собой Glu232Gly, аминокислотная мутация в положении 294 белка, кодируемого геном F, представляет собой Glu294Lys, аминокислотная мутация в положении 486 белка, кодируемого геном F, представляет собой Asp486Gly, аминокислотная мутация в положении 148 белка, кодируемого геном L, представляет собой Asp148Ala и аминокислотная мутация в положении 2054 белка, кодируемого геном L, представляет собой Leu2054Phe.

17. Аттенуированный RSV по п.16, где одна или несколько аминокислотных мутаций включают Glu294Lys в белке, кодируемом геном F, Asp486Gly в белке, кодируемом геном F, Asp148Ala в белке, кодируемом геном L, и Leu2054Phe в белке, кодируемом геном L.

18. Аттенуированный RSV по п.17, где одна или несколько аминокислотных мутаций включают Lys204Glu в белке, кодируемом геном G, Lys205Glu в белке, кодируемом геном G, Thr211Ala в белке, кодируемом геном G, Lys213Glu в белке, кодируемом геном G, Lys221Gly в белке, кодируемом геном G, Lys223Glu в белке, кодируемом геном G, Glu232Gly в белке, кодируемом геном G, Glu294Lys в белке, кодируемом геном F, Asp486Gly в белке, кодируемом геном F, Asp148Ala в белке, кодируемом геном L, и Leu2054Phe в белке, кодируемом геном L.

19. Аттенуированный RSV по п.14, где одна или несколько нуклеотидных мутаций, приводящих к одной или нескольким аминокислотным мутациям, находятся в положениях нуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из: положений 610, 613, 631, 637, 639, 661, 662, 667, 668, 695 и 696 гена G; положений 880 и 1457 гена F; и положений 443 и 6162 гена L.

20. Аттенуированный RSV по п.19, где нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 610 гена G представляет собой A610G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 613 гена G представляет собой A613G, нуклеотидная мутация в положении

нуклеотида 631 гена G представляет собой A631G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 637 гена G представляет собой A637G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 639 гена G представляет собой A639G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 661 гена G представляет собой A661G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 662 гена G представляет собой A662G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 667 гена G представляет собой A667G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 668 гена G представляет собой A668G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 695 гена G представляет собой A695G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 696 гена G представляет собой A696G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 880 гена F представляет собой G880A, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 1457 гена F представляет собой A1457G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 443 гена L представляет собой A443C и нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 6162 гена L представляет собой G6162T.

21. Аттенуированный RSV по п.20, где вирусный геном дополнительно содержит одну или несколько молчащих нуклеотидных мутаций, находящихся в положениях нуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из положения 162 гена NS1, положения 327 гена NS2, положения 630 гена G, положения 654 гена G, положения 666 гена G и положения 675 гена G.

22. Аттенуированный RSV по п.21, где нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 162 гена NS1 представляет собой T162A, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 327 гена NS2 представляет собой G327A, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 630 гена G представляет собой A630G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 654 гена G представляет собой A654G, нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 666 гена G представляет собой A666G и нуклеотидная мутация в положении нуклеотида 675 гена G представляет собой A675G.

23. Аттенуированный RSV по п.22, где вирусный геном содержит нуклеотидные мутации: T162A в положении нуклеотида 162 гена NS1, G327A в положении нуклеотида 327 гена NS2, A610G в положении нуклеотида 610 гена G, A613G в положении нуклеотида 613 гена G, A630G в положении нуклеотида 630 гена G, A631G в положении нуклеотида 631 гена G, A637G в положении нуклеотида 637 гена G, A639G в положении нуклеотида 639 гена G, A654G в положении нуклеотида 654 гена G, A661G в положении нуклеотида 661 гена G, A662G в положении нуклеотида 662 гена G, A666G в положении нуклеотида 666 гена G, A667G в положении нуклеотида 667 гена G, A668G в положении нуклеотида 668 гена G, A675G в положении нуклеотида 675 гена G, A695G в положении нуклеотида 695 гена G, A696G в положении нуклеотида 696 гена G, G880A в положении нуклеотида 880 гена F, A1457G в положении нуклеотида 1457 гена F, A443C в положении нуклеотида 443 гена L и G6162T в положении нуклеотида 6162 гена L.

24. Иммуногенная композиция, содержащая живой аттенуированный RSV по любому из пп.1-23, и фармацевтически приемлемый носитель.

25. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая геномную или антигеномную последовательность, кодирующую живой аттенуированный RSV по любому из пп.1-23.

26. Молекула нуклеиновой кислоты по п.25, где указанная молекула нуклеиновой кислоты представляет собой экспрессирующий вектор.

27. Рекомбинантная клетка, содержащая экспрессирующий вектор, определенный в п.26.

28. Популяция живого аттенуированного респираторно-синцитиального вируса (RSV), содержащая аттенуированный RSV по любому из пп.1-23.

29. Иммуногенная композиция, содержащая популяцию живого аттенуированного RSV по п.28, и фармацевтически приемлемый носитель.

30. Способ получения протективного иммунного ответа против инфекции RSV у индивидуума, включающий стадию введения указанному индивидууму иммунологически эффективного количества одного или нескольких из следующих:

- (a) аттенуированный RSV по любому из пп.1-23;
- (b) популяция аттенуированного RSV по п.28;
- (c) иммуногенная композиция по п.24; или
- (d) иммуногенная композиция по п.29.

31. Способ по п.30, где указанный индивидуум представляет собой человека.

32. Применение иммунологически эффективного количества одного или нескольких из следующих:

- (a) аттенуированный RSV по любому из пп.1-23;
- (b) популяция аттенуированного RSV по п.28;
- (c) иммуногенная композиция по п.24; или
- (d) иммуногенная композиция по п.29;

в производстве лекарственного средства для индукции протективного иммунного ответа у пациента против инфекции RSV.

33. Применение по п.32, где пациент представляет собой человека.