

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

(21) (22) Заявка: 2017135552, 31.03.2016

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
31.03.2015 US 62/140,492

(43) Дата публикации заявки: 30.04.2019 Бюл. № 13

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 31.10.2017

(86) Заявка РСТ:
IL 2016/050346 (31.03.2016)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/157190 (06.10.2016)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Угрюмов
Владислав Михайлович

(71) Заявитель(и):

**ИЕДА РИСЕЧ ЭНД ДЕВЕЛОПМЕНТ КО.
ЛТД. (IL)**

(72) Автор(ы):

**МИРЕЛЬМАН, Давид (IL),
РАБИНКОВ, Ахарон (IL),
РУБАН, Анжела (IL),
ЙОНА, Гил (IL),
ХАЗУМ, Эли (IL),
БУМЕЛИС, Владас (IL),
МАКАУСКАС, Нериус (IL),
СУДЖИУВИЭНЕ, Сауле (IL),
НАРМОНТАЙТЕ, Елена (IL)**(54) **ГЛУТАМАТ ОКСАЛОАЦЕТАТ ТРАНСАМИНАЗА 1 (GOT1), ПРЕПАРАТЫ И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ**

(57) Формула изобретения

1. Белковый препарат, содержащий полипептидные молекулы глутамат оксалоацетат трансаминазы 1 (GOT1), причем 100% полипептидных молекул GOT1 содержат аланин в положении 1 полипептида GOT1 и причем полипептидные молекулы GOT1 составляют по меньшей мере 95% белков в препарате.

2. Белковый препарат по п. 1, в котором белок составляет по меньшей мере 98% молекул в препарате.

3. Фармацевтическая композиция, содержащая белковый препарат по п. 1 или 2 в качестве активного агента и фармацевтически приемлемый носитель.

4. Препарат или фармацевтическая композиция по п. 1 или 3, в которой указанный GOT1 состоит из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 2.

5. Слитый белок глутамат оксалоацетат трансаминазы 1 (GOT1), содержащий GOT1 и малый убиквитин-подобный модификатор (SUMO), в котором N-конец указанного GOT1 трансляционно слит с C-концом указанного SUMO, причем слитый белок лишен метки аффинности, причем указанный GOT1 содержит аланин в положении 1.

6. Слитый белок по п. 5, в котором аминокислотная последовательность GOT1 по меньшей мере на 90% гомологична SEQ ID NO: 2.

7. Слитый белок по п. 5, в котором аминокислотная последовательность указанного SUMO по меньшей мере на 90% гомологична SEQ ID NO: 5.

8. Слитый белок по п. 5, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% гомологична SEQ ID NO: 1.
9. Слитый белок по п. 5, состоящий из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 1.
10. Слитый белок по п. 5, в котором указанный SUMO представляет собой SUMO дрожжей.
11. Слитый белок по п. 10, в котором указанный SUMO дрожжей представляет собой супрессор *mif two 3 Saccharomyces cerevisiae* (SMT3).
12. Выделенный полинуклеотид, кодирующий слитый белок по любому из пп. 5-11.
13. Выделенный полинуклеотид по п. 12, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 90% гомологична SEQ ID NO: 3.
14. Конструкт нуклеиновой кислоты, содержащий выделенный полинуклеотид по любому из пп. 12 или 13.
15. Белковый препарат по п. 1 для применения при лечении заболевания или состояния, связанного с избытком глутамата.
16. Фармацевтическая композиция по п. 3, для применения при лечении заболевания или состояния, связанного с избытком глутамата.
17. Препарат или композиция по п. 15 или 16, причем заболевание или состояние представляет собой злокачественную опухоль центральной нервной системы, церебральную ишемию или нейродегенеративное заболевание.
18. Препарат или композиция по п. 17, причем указанная злокачественная опухоль представляет собой глиобластому.
19. Способ очистки полипептида, предусматривающий:
 - (а) экспрессию слитого белка, содержащего указанный полипептид и SUMO, в клетках-хозяевах, причем N-конец указанного полипептида трансляционно слит с С-концом указанного SUMO, причем слитый белок лишен гетерологичной аффинной метки;
 - (b) удаление указанного SUMO из указанного слитого белка, а также
 - (с) выделение указанного полипептида из указанных клеток-хозяев, тем самым очищая полипептид.
20. Способ по п. 19, при котором стадию (b) осуществляют до стадии (с).
21. Способ по п. 19, при котором указанный полипептид представляет собой GOT1.
22. Способ по п. 19 или 21, при котором указанное удаление осуществляют с использованием SUMO-протеазы.
23. Способ по п. 19, при котором указанное выделение осуществляют с использованием технологии, выбранной из группы, состоящей из термического осаждения, индуцированного солью осаждения, хроматографии на наполнителях смешанного типа, катионообменной хроматографии и анионообменной хроматографии.
24. Способ по п. 21, при котором указанное выделение осуществляют посредством:
 - (а) очистки GOT1 с помощью термической обработки;
 - (b) очистки GOT1 с помощью индуцированного солью осаждения;
 - (с) очистки GOT1 с помощью хроматографии на наполнителях смешанного типа;
 - (d) очистки GOT1 с помощью катионообменной хроматографии; а также
 - (е) очистки GOT1 с помощью анионообменной хроматографией, причем стадия (е) следует за стадией (d), причем стадия (d) следует за стадией (с), причем стадия (с) следует за стадией (b) и причем стадия (b) следует за стадией (а).
25. Способ по любому из пп. 23 и 24, при котором указанное индуцированное солью осаждение предусматривает осаждение, индуцированное сульфатом аммония.