



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2012106760/10, 21.07.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
21.07.2009 EP 09305690.1;
25.11.2009 US 61/264,299

(43) Дата публикации заявки: 27.08.2013 Бюл. № 24

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 21.02.2012(86) Заявка РСТ:
EP 2010/004478 (21.07.2010)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/009613 (27.01.2011)

Адрес для переписки:

191186, Санкт-Петербург, а/я 230, "АРС-
ПАТЕНТ", пат.пов. И.И.Липатовой, рег.№ 554

(71) Заявитель(и):

ТРАНСГЕН СА (FR)

(72) Автор(ы):

МАРИЛЬЯНО Мартина (FR),
РЕЙМУНД Жаклин (FR),
СЭН-МАРИ Мартина (FR)(54) **ФЕРМЕНТАТИВНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ
КУРИНОГО ЭМБРИОНА**

(57) Формула изобретения

1. Применение ферментативной композиции для расщепления куриных эмбрионов для получения препарата куриных клеток, где указанная ферментативная композиция выбрана из группы, состоящей из:

- трипсина, диспазы и коллагеназы;
- трипсина, диспазы и аккутазы;
- трипсина, диспазы, коллагеназы и аккутазы;
- трипсина и диспазы; и
- диспазы и аккутазы.

2. Применение по п.1, где указанная ферментативная композиция свободна от продуктов животного происхождения, и где указанные трипсин, диспаза, коллагеназа и аккутаза являются рекомбинантными трипсином, диспазой, коллагеназой и аккутазой, соответственно.

3. Применение по п.1, где указанный препарат куриных клеток состоит более чем из 500×10^6 клеток, выделенных из одного эмбриона.

4. Применение по п.1, где указанные куриные эмбрионы не разрезают перед указанным расщеплением.

5. Применение по п.1, где указанная ферментативная композиция выбрана из группы,

состоящей из:

- трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 30 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, 100 мг/эмбрион диспазы и 200 мг/эмбрион коллагеназы;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, 100 мг/эмбрион диспазы и 200 мг/эмбрион коллагеназы;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 15 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, 100 мг/эмбрион диспазы и аккутазы, добавленной в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион Accutase от Sigma, кат. № А-6964;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 15 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, 100 мг/эмбрион диспазы, 200 мг/эмбрион коллагеназы и аккутазы, добавленной в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион Accutase от Sigma, кат. № А-6964;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 30 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, 100 мг/эмбрион диспазы, и аккутазы, добавленной в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион Accutase от Sigma, кат. № А-6964;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, 100 мг/эмбрион диспазы и 100 мг/эмбрион коллагеназы;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 30 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, 100 мг/эмбрион диспазы, 200 мг/эмбрион коллагеназы и аккутазы, добавленной в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион Accutase от Sigma, кат. № А-6964;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, 100 мг/эмбрион диспазы и аккутазы, добавленной в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион Accutase от Sigma, кат. № А-6964;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 15 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, и 50 мг/эмбрион диспазы;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 30 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, и 100 мг/эмбрион диспазы;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 10 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, и 100 мг/эмбрион диспазы;
 - 100 мг/эмбрион диспазы и 10 мл/эмбрион аккутазы;
 - трипсина, добавленного в концентрации, эквивалентной 5 мл/эмбрион TrypLE Select от Invitrogen, кат. №12563-029, и 150 мг/эмбрион диспазы.
6. Применение по п.1, где указанный препарат куриных клеток состоит из выделенных куриных клеток.
7. Применение по п.6, где указанные выделенные куриные клетки являются фибробластами куриного эмбриона (СЕР), почечными клетками куриного эмбриона (СЕКС) или клетками печени куриного эмбриона (СЕЛС).
8. Применение по п.7, где указанные выделенные куриные клетки являются фибробластами куриного эмбриона (СЕР).
9. Применение по п.1, где указанный препарат куриных клеток состоит из смеси куриных клеток.
10. Применение по п.9, где указанная смесь куриных клеток включает СЕР, СЕКС, СЕЛС, сердечные клетки, мышечные клетки, эпителиальные клетки, клетки крови и/или эндотелиальные клетки.
11. Способ получения препарата куриных клеток путем обработки куриных эмбрионов ферментативной композицией, который включает следующие этапы:

RU 2012106760 A

RU 2012106760 A

- извлечение эмбрионов из открытых яиц,
- отрезание головы и ног,
- непосредственно расщепление эмбрионов без этапа расчленения с помощью ферментативной композиции по пп.1, 2 или 5.

12. Способ по п.11, в котором расщепление указанных куриных эмбрионов осуществляют при следующих условиях:

- температура инкубации составляет от 35°C до 39°C, а длительность инкубации составляет от 1 до 3 ч.

13. Способ по п.12, где температура инкубации составляет от 36°C до 37°C.

14. Способ по п.13, где температура инкубации составляет 36°C, 36,5°C или 37°C.

15. Способ по п.14, где температура инкубации составляет 37°C.

16. Способ по п.12, в котором продолжительность инкубации составляет 2 ч.

17. Способ по п.11, за которым следует один этап фильтрации.

18. Способ по п.17, в котором указанный этап фильтрации осуществляется с помощью фильтра из нержавеющей стали.

19. Способ по любому из пп.11-18, за которым следует один этап центрифугирования.

20. Применение по любому из пп.1-10, где указанный препарат куриных клеток используется для производства вируса.

21. Применение по п.20, где указанный вирус является поксвирусом.