



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2013151885, 20.04.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.04.2012

Дата регистрации:
21.02.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
22.04.2011 US 61/478,355

(43) Дата публикации заявки: 27.05.2015 Бюл. № 15

(45) Опубликовано: 21.02.2017 Бюл. № 6

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 22.11.2013

(86) Заявка РСТ:
US 2012/034413 (20.04.2012)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2012/145601 (26.10.2012)

Адрес для переписки:
109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент"

(72) Автор(ы):

ШЕФФЕР Дэвид В. (US),
КЛИМЧАК Райан Р. (US),
КЁРБЕР Джеймс Т. (US),
ФЛЭННЕРИ Джон Дж. (US),
ДАЛКАРА МОУРОТ Дениз (FR),
ВИЗЕЛЬ Майке (US),
БЁРН Леа С.Т. (US)

(73) Патентообладатель(и):

ТЕ РИДЖЕНТС ОФ ТЕ ЮНИВЕРСИТИ
ОФ КАЛИФОРНИЯ (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2010093784 A2, 19.08.2010.
PETERS-SILVA H. et al., "High-efficiency
transduction of the mouse retina by
tyrosine-mutant AAV serotype vectors", Mol
Ther. 2009 Mar;17(3):463-71. PARK T.K. et al.,
"Intravitreal delivery of AAV8 retinoschisin
results in cell type-specific gene expression and
retinal rescue in the Rs1-KO mouse", Gene
Ther. 2009 (см. прод.)

(54) **ВИРИОНЫ АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСА С ВАРИАНТНЫМ КАПСИДОМ И СПОСОБЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

(57) **Формула изобретения**

1. Вирион рекомбинантного аденоассоциированного вируса гAAV для доставки генного продукта в ретинальную клетку, содержащий:

а) вариантный капсидный белок аденоассоциированного вируса AAV, который содержит вставку пептида в петле GH капсидного белка по сравнению с соответствующим родительским капсидным белком аденоассоциированного вируса AAV, где пептид включает аминокислотную последовательность, выбранную из LGETTRP (SEQ ID №13), NETITRP (SEQ ID №14), KAGQANN (SEQ ID №15), KDPKTTN (SEQ ID №16), KDTDTTR (SEQ ID №57), RAGGSVG (SEQ ID №58), AVDTTKF (SEQ ID №59) и STGKVPN (SEQ ID №60), где участок вставки находится в пределах аминокислот 570-611 капсидного белка AAV2, изложенного в SEQ ID №1, или соответствующем положении в капсидном белке другого серотипа AAV, и где вариантный капсидный белок обеспечивает повышенную инфекционность вириона гAAV в ретинальной клетке по сравнению с инфекционностью вириона AAV, содержащего соответствующий

родительский капсидный белок AAV; и

б) гетерологичную нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую генный продукт.

2. Вирион гAAV по п. 1, отличающийся тем, что вставка включает аминокислотную последовательность LGETTRP (SEQ ID №13).

3. Вирион гAAV по п. 1, отличающийся тем, что ретинальная клетка является фоторецептором, ганглиозной клеткой сетчатки, клеткой Мюллера, биполярной клеткой, амакринной клеткой, горизонтальной клеткой или клеткой пигментного эпителия сетчатки.

4. Вирион гAAV по п. 1, отличающийся тем, что сайт встраивания находится между аминокислотами 587 и 588 из AAV2, между аминокислотами 590 и 591 из AAV1, между аминокислотами 575 и 576 из AAV5, между аминокислотами 590 и 591 из AAV6, между аминокислотами 589 и 590 из AAV7, между аминокислотами 590 и 591 из AAV8, между аминокислотами 588 и 589 из AAV9 или между аминокислотами 588 и 589 из AAV10.

5. Вирион гAAV по п. 1, отличающийся тем, что он демонстрирует, по меньшей мере, 10-кратное повышение инфекционности в ретинальной клетке по сравнению с инфекционностью вириона AAV, содержащего соответствующий родительский капсидный белок AAV.

6. Вирион гAAV по п. 1, отличающийся тем, что он демонстрирует, по меньшей мере, 50-кратное повышение инфекционности в ретинальной клетке по сравнению с инфекционностью вириона AAV, содержащего соответствующий родительский капсидный белок AAV.

7. Вирион гAAV по п. 1, отличающийся тем, что генный продукт является интерферирующей РНК или аптамером.

8. Вирион гAAV по п. 1, отличающийся тем, что генный продукт является полипептидом.

9. Вирион гAAV по п. 8, отличающийся тем, что полипептид является нейротропным полипептидом, анти-ангиогенным полипептидом или полипептидом, который повышает функцию ретинальной клетки.

10. Вирион гAAV по п. 8, отличающийся тем, что полипептид выбирают из группы, состоящей из глиального нейротрофического фактора, фактора роста фибробластов 2, нейротурина, цилиарного нейротрофического фактора, фактора роста нервов, нейротрофического фактора из тканей мозга, эпидермального фактора роста, родопсина, X-сцепленного ингибитора апоптоза, ретиношизина, RPE65, взаимодействующего белка-1 регулятора ГТФазы пигментной дистрофии сетчатки, периферина, периферина-2, родопсина или хеджехог-белка.

11. Фармацевтическая композиция для доставки генного продукта в ретинальную клетку, содержащая:

- а) вирион рекомбинантного аденоассоциированного вируса гAAV по п. 1; и
- б) фармацевтически приемлемый эксципиент.

12. Способ доставки генного продукта в ретинальную клетку индивидуума, который включает введение индивидууму вириона рекомбинантного аденоассоциированного вируса гAAV по п. 1.

13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что генный продукт является короткой интерферирующей РНК или аптамером.

14. Способ по п. 12, отличающийся тем, что генный продукт является полипептидом.

15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что полипептид является нейротропным полипептидом, анти-ангиогенным полипептидом, анти-апоптотическим фактором или полипептидом, который повышает функцию ретинальной клетки.

16. Способ по п. 14, отличающийся тем, что полипептид является глиальным

нейротрофическим фактором, фактором роста фибробластов 2, нейротурином, цилиарным нейротрофическим фактором, фактор роста нервов, нейротрофическим фактором из тканей мозга, эпидермальным фактором роста, родопсином, X-сцепленным ингибитором апоптоза, ретиношизином, RPE65, взаимодействующим белком-1 регулятора ГТФазы пигментной дистрофии сетчатки, периферином, периферином-2, родопсином или хеджехог-белком.

17. Способ лечения заболевания сетчатки, который включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом, эффективного количества вириона рекомбинантного аденоассоциированного вируса rAAV по п. 1.

18. Способ по п. 17, отличающийся тем, что указанное введение является внутриглазной инъекцией.

19. Способ по п. 17, отличающийся тем, что указанное введение является интравитреальной инъекцией.

20. Способ по п. 17, отличающийся тем, что глазная болезнь является глаукомой, пигментной дистрофией сетчатки, макулярной дегенерацией, ретиношизисом, врожденным амаврозом Лебера, диабетической ретинопатией, ахроматопсией или дальтонизмом.

21. Вариантный капсидный белок аденоассоциированного вируса AAV для доставки генного продукта в ретинальную клетку, который содержит вставку пептида в петле GH капсидного белка по сравнению с соответствующим родительским капсидным белком AAV, где пептид включает аминокислотную последовательность, выбранную из числа LGETTRP (SEQ ID №13), NETITRP (SEQ ID №14), KAGQANN (SEQ ID №15), KDPKTTN (SEQ ID №16), KDTDTR (SEQ ID №57), RAGGSVG (SEQ ID №58), AVDTTKF (SEQ ID №59) и STGKVPN (SEQ ID №60), где участок вставки находится в пределах аминокислот 570-611 капсидного белка AAV2 изложенного в SEQ ID №1, или соответствующем положении в капсидном белке другого серотипа AAV, и где вариантный капсидный белок, когда присутствует в вирионе AAV, обеспечивает повышенную инфекционность вириона AAV в ретинальной клетке.

22. Вариантный капсидный белок AAV по п. 21, отличающийся тем, что вставка содержит аминокислотную последовательность, выбранную из LGETTRP (SEQ ID №13), NETITRP (SEQ ID №14), KAGQANN (SEQ ID №15), KDPKTTN (SEQ ID №16), KDTDTR (SEQ ID №57), RAGGSVG (SEQ ID №58), AVDTTKF (SEQ ID №59) и STGKVPN (SEQ ID №60).

23. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, которая кодирует вариантный капсидный белок аденоассоциированного вируса AAV по п. 21 или 22.

24. Выделенная генетически модифицированная клетка-хозяин, экспрессирующая капсидный белок аденоассоциированного вируса AAV по п. 21 или 22, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 23.

(56) (продолжение):

Jul;16(7):916-26.RU 2301260 C2, 20.06.2007.

RU
2611202
C2

C2
2611202
RU