



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21), (22) Заявка: 2005102484/13, 02.07.2003

(30) Приоритет: 02.07.2002 US 60/393,694
08.07.2002 US 60/394,510

(43) Дата публикации заявки: 20.01.2006 Бюл. № 02

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную
фазу: 02.02.2005

(86) Заявка РСТ:
US 03/20996 (02.07.2003)

(87) Публикация РСТ:
WO 2004/005473 (15.01.2004)

Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Г.Б. Егоровой

(71) Заявитель(и):
ЧИРОН КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Автор(ы):
ХОТОН Майкл (US)

(74) Патентный поверенный:
Егорова Галина Борисовна

(54) **СЛИТЫЕ БЕЛКИ HCV С МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ДОМЕНАМИ NS3**

Формула изобретения

1. Иммуногенный слитый белок, содержащий (а) модифицированный полипептид NS3, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную замену в области NS3 HCV, такую что протеазная активность ингибируется, и (b) по меньшей мере один полипептид, полученный из другой области полибелка HCV, отличной от области NS3.

2. Слитый белок по п.1, где модификация включает в себя замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1.

3. Слитый белок по любому из п.1 или 2, где белок содержит модифицированный полипептид NS3, полипептид N34, полипептид NS5a и необязательно коровый полипептид.

4. Слитый белок по п.3, где белок дополнительно содержит полипептид NS5b и необязательно коровый полипептид.

5. Слитый белок по п.3, где белок дополнительно содержит полипептид E2, полипептид р7, полипептид NS2 и необязательно коровый полипептид.

6. Слитый белок по п.3, где белок дополнительно содержит полипептид E1, полипептид E2, полипептид р7, полипептид NS2 и необязательно коровый полипептид.

7. Слитый белок по п.3, где белок дополнительно содержит полипептид E2 и необязательно коровый полипептид.

8. Слитый белок по п.3, где белок дополнительно содержит полипептид E1, полипептид E2 и необязательно коровый полипептид.

9. Слитый белок по п.1, где белок содержит полипептид E2, модифицированный

полипептид NS3 и необязательно коровый полипептид.

10. Слитый белок по п.1, где белок содержит полипептид E1, полипептид E2, модифицированный полипептид NS3 и необязательно коровый полипептид.

11. Слитый белок по п.1 или 2, где полипептиды (a) и (b) получены из одного и того же изолята HCV.

12. Слитый белок по п.1 или 2, где по меньшей мере один из полипептидов, присутствующих в слиянии, получен из другого изолята, отличного от изолята модифицированного полипептида NS3.

13. Иммуногенный слитый белок, по существу состоящий, в направлении от аминоконца к карбоксильному концу, из

(a) модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4 и полипептида NS5a;

(b) модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a и полипептида NS5b;

(c) полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4 и полипептида NS5a;

(d) полипептида E1, полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4 и полипептида NS5a;

(e) полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a и полипептида NS5b;

(f) полипептида E1, полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a и полипептида NS5b;

(g) полипептида E2 и модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется;

(h) полипептида E1, полипептида E2 и модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется;

(i) полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2 и модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; или

(j) полипептида E1, полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2 и модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется.

14. Иммуногенный слитый белок, по существу, состоящий в направлении от аминоконца

к карбоксильному концу, из

(а) модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a и коревого полипептида;

(b) модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a, полипептида NS5b и коревого полипептида;

(с) полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a и коревого полипептида;

(d) полипептида E1, полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a и коревого полипептида;

(е) полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a, полипептида NS5b и коревого полипептида;

(f) полипептида E1, полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; полипептида NS4, полипептида NS5a, полипептида NS5b и коревого полипептида;

(д) полипептида E2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; и коревого полипептида;

(h) полипептида E1, полипептида E2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; и коревого полипептида;

(i) полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; и коревого полипептида; или

(j) полипептида E1, полипептида E2, полипептида p7, полипептида NS2, модифицированного полипептида NS3, содержащего замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется; и коревого полипептида.

15. Модифицированный полипептид NS3, содержащий замену аминокислоты, соответствующей His-1083, Asp-1105 и/или Ser-1165, пронумерованным относительно полноразмерного полибелка HCV-1, такую, что протеазная активность ингибируется в том случае, когда модифицированный полипептид NS3 присутствует в слитом белке HCV.

16. Композиция, содержащая иммуногенный слитый белок по любому из пп.1-14 или модифицированный полипептид NS3 по п.15 в комбинации с фармацевтически приемлемым эксципиентом.

17. Способ стимуляции клеточного иммунного ответа у позвоночного, включающий в

себя введение терапевтически эффективного количества композиции по п.16.

18. Применение композиции по п.15 в способе стимуляции клеточного иммунного ответа у позвоночного.

19. Применение иммуногенного слитого белка по любому из пп.1-14 или модифицированного полипептида NS3 по п.15 в производстве лекарственного средства для стимуляции клеточного иммунного ответа у позвоночного.

20. Способ получения композиции, заключающийся в комбинировании иммуногенного слитого белка по любому из пп.1-14 или модифицированного полипептида NS3 по п.15 с фармацевтически приемлемым эксципиентом.

21. Полинуклеотид, содержащий кодирующую последовательность, кодирующую слитый белок по любому из пп.1-14 или модифицированный полипептид NS3 по п.15.

22. Рекомбинантный вектор, содержащий

(а) полинуклеотид по п.21; и

(b) по меньшей мере один контрольный элемент, оперативно связанный с указанным полинуклеотидом, посредством которого указанная кодирующая последовательность может быть транскрибирована и транслирована в клетке-хозяине.

23. Клетка-хозяин, содержащая рекомбинантный вектор по п.22.

24. Способ получения иммуногенного слитого белка или модифицированного полипептида, при этом указанный способ включает в себя культивирование популяции клеток-хозяев по п.23 в условиях продуцирования указанного белка.