

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

(21)(22) Заявка: 2020126574, 11.01.2019

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

11.01.2018 US 62/616,167;

16.11.2018 US 62/768,779

(43) Дата публикации заявки: 11.02.2022 Бюл. № 5

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 11.08.2020

(86) Заявка РСТ:

US 2019/013361 (11.01.2019)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2019/140311 (18.07.2019)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спаская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

КЭМИЛИЭН БАЙОСАЙНСИЗ, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

УИНСЛОУ, Дженин (US)(54) **ВЕКТОРЫ, УСКОЛЬЗАЮЩИЕ ОТ ИММУННОГО НАДЗОРА, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В
ГЕНОТЕРАПИИ**

(57) Формула изобретения

1. Вектор на основе оболочечного вируса, содержащий вирусную частицу, окруженную оболочкой, где вирусная частица содержит гетерологичный трансген, а оболочка содержит липидный бислои и одну или более иммуносупрессорных молекул.

2. Вектор на основе оболочечного вируса по п.1, где оболочечный вирус имеет пониженную иммуногенность по сравнению с вектором того же типа без иммуносупрессорных молекул в липидном бислое.

3. Вектор на основе оболочечного вируса по п.1 или 2, где одна или более иммуносупрессорных молекул содержат один или более белков иммунной контрольной точки.

4. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп. 1-3, где одна или более иммуносупрессорных молекул содержат одну или более из CTLA4, B7-1, B7-2, PD-1, PD-L1, PD-L2, CD28, VISTA, TIM-3, GAL9, TIGIT, CD155, LAG3, VISTA, BTLA или HVEM.

5. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп. 1-4, где оболочка содержит две или более, три или более или четыре или более различных иммуносупрессорных молекул; или содержит два или более, три или более или четыре или более различных белков контрольной точки.

6. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп. 1-5, где оболочка содержит

CTLA4 и PD-L1; CTLA и PD-L2; CTLA-4 и VISTA; PD-L1 и PD-L2; PD-L1 и VISTA; PD-L2 и VISTA; CTLA4 и PD-L1 и PD-L2; CTLA4 и PD-L1 и VISTA; CTLA4 и PD-L2 и VISTA; PD-L1 и PD-L2 и VISTA; или CTLA4 и PD-L1 и PD-L1 и VISTA.

7. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-6, где одна или более иммуносупрессорных молекул содержат трансмембранный домен.

8. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-7, где оболочка также содержит нацеливающую молекулу.

9. Вектор на основе оболочечного вируса по п.8, где нацеливающая молекула сообщает вектору с оболочкой специфичность к клетке или к ткани.

10. Вектор на основе оболочечного вируса по п.9, где нацеливающей молекулой является антитело.

11. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.8-10, где одна или более нацеливающих молекул содержат трансмембранный домен.

12. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-11, где оболочка содержит часть клеточной мембраны клетки, включающую одну или более экзогенных нуклеиновых кислот, кодирующих одну или более иммуносупрессорных молекул.

13. Вектор на основе оболочечного вируса по п.12, где вирусная частица содержит вирусный капсид и вирусный геном, а вирусный геном содержит гетерологичный трансген.

14. Вектор на основе оболочечного вируса по п.13, где гетерологичный трансген кодирует полипептид.

15. Вектор на основе оболочечного вируса по п.14, где гетерологичный трансген кодирует терапевтический полипептид или репортерный полипептид.

16. Вектор на основе оболочечного вируса по п.13, где гетерологичный трансген кодирует фактор VIII, фактор IX, миотубуларин, белок, ответственный за выживание двигательных нейронов (SMN), ретиноид-изомерогидролазу (RPE65), цепь NADH-убихинон-оксидоредуктазы 4, белок, вызывающий хороидеремию (CHM), гентингтин, альфа-галактозидазу А, кислую бета-глюкозидазу, альфа-глюкозидазу, орнитин-транскарбамилазу, аргининосукцинат-синтетазу, β -глобин, γ -глобин, фенилаланин-гидроксилазу или белок, вызывающий адренолейкодистрофию (ALD).

17. Вектор на основе оболочечного вируса по п.13, где гетерологичный трансген кодирует терапевтическую нуклеиновую кислоту.

18. Вектор на основе оболочечного вируса по п.17, где терапевтическая нуклеиновая кислота представляет собой киРНК, миРНК, кшРНК, антисмысловую РНК, РНКзим или ДНКзим.

19. Вектор на основе оболочечного вируса по п.13, где гетерологичный трансген кодирует один или более продуктов редактирования генов.

20. Вектор на основе оболочечного вируса по п.19, где один или более продуктов редактирования генов представляют собой РНК-зависимую нуклеазу, руководящую нуклеиновую кислоту и/или донорную нуклеиновую кислоту.

21. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-20, где вирусная частица содержит аденоассоциированный вирусный вектор (AAV).

22. Вектор на основе оболочечного вируса по п.21, где вектор AAV содержит капсид человеческого AAV серотипа AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 или AAV12.

23. Вектор на основе оболочечного вируса по п.21 или 22, где AAV содержит вирусный геном AAV, содержащий последовательности инвертированного концевой повтора (ITR), где капсид AAV и ITR AAV происходят от AAV одного и того же серотипа или от различных серотипов AAV.

24. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1 или 21-23, где вектор

на основе оболочечного вируса представляет собой AAV с оболочкой, содержащий гетерологичный трансген, кодирующий человеческий фактор IX, а оболочка представляет собой экзосому, сконструированную так, чтобы она содержала CTLA-4 и PD-L1.

25. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1 или 21-24, где оболочка представляет собой экзосому клетки-производителя, сконструированную для суперэкспрессии CTLA-4 и PD-L1.

26. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1 или 21-23, где вектор на основе оболочечного вируса представляет собой AAV с оболочкой, содержащей гетерологичный трансген, кодирующий человеческий фактор VIII, а оболочка представляет собой экзосому, сконструированную так, чтобы она содержала CTLA-4 и PD-L1.

27. Вектор на основе оболочечного вируса по п.26, где оболочка представляет собой экзосому клетки-производителя, сконструированную для суперэкспрессии CTLA-4 и PD-L1.

28. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-20, где вирусная частица содержит лентивирусный вектор.

29. Вектор на основе оболочечного вируса по п.28, где лентивирусный вектор представляет собой вирус иммунодефицита человека, вирус иммунодефицита обезьян или вирус иммунодефицита кошек.

30. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-29, где вектор при его введении индивидууму в виде однократной дозы обеспечивает уровни экспрессии трансгена через 3 недели после введения индивидууму, которые увеличиваются приблизительно на 50% или более по сравнению с уровнями экспрессии трансгена после введения вирусного вектора без оболочки того же типа в том же количестве и в тех же условиях.

31. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-30, где вектор, после его введения индивидууму в виде однократной дозы через 3 недели, обеспечивает уровни экспрессии трансгена, которые увеличиваются приблизительно на 20% или более по сравнению с уровнями экспрессии трансгена после введения вектора на основе оболочечного вируса того же типа в том же количестве, но без иммуносупрессорных молекул в тех же условиях.

32. Композиция, содержащая вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

33. Способ доставки трансгена в клетку или индивидууму, включающий введение в клетку или индивидууму вектора на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 или композиции по п.32.

34. Способ по п.33, где индивидуум страдает заболеванием или состоянием, которое может быть подвергнуто лечению путем доставки и экспрессии трансгена.

35. Способ лечения заболевания или расстройства у индивидуума, включающий введение индивидууму вектора на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 или композиции по п.32.

36. Способ по любому из пп.33-35, где индивидуумом является человек.

37. Способ по любому из пп.34-36, где заболевание или расстройство представляет собой моногенное заболевание.

38. Способ по любому из пп.34-36, где заболевание или расстройство представляет собой миопатию, вызываемую миотубулярином, спинальную мышечную атрофию, врожденный амавроз Лебера, гемофилию А, гемофилию В, хориоидермию, болезнь Гентингтона, болезнь Баттена, наследственную невропатию зрительного нерва Лебера, дефицит орнитин-транскарбамилазы (ОТС), болезнь Помпе, болезнь Фабри,

цитруллинемию типа 1, фенилкетонурию (ФКУ), адренолейкодистрофию, серповидно-клеточную анемию, болезнь Нимана-Пика или бета-талассемию.

39. Способ по любому из пп.34-36, где заболевание или расстройство представляет собой гемофилию А или гемофилию В.

40. Способ по любому из пп.34-36, где индивидуум страдает гемофилией В; вектор на основе оболочечного вируса содержит AAV, содержащий гетерологичный трансген, кодирующий фактор IX, а оболочка представляет собой экзосому, сконструированную так, чтобы она содержала CTLA-4 и PD-L1.

41. Способ по любому из пп.34-36, где индивидуум страдает гемофилией А; вектор на основе оболочечного вируса содержит AAV с оболочкой, содержащий гетерологичный трансген, кодирующий человеческий фактор VIII, а оболочка представляет собой экзосому, сконструированную так, чтобы она содержала CTLA-4 и PD-L1.

42. Способ по п.40 или 41, где оболочка представляет собой экзосому клетки-продуцента, сконструированную для суперэкспрессии CTLA-4 и PD-L1.

43. Способ по любому из пп.33-42, где способ включает введение индивидууму двух или более доз вектора на основе оболочечного вируса с интервалом в 1 день или более между введением каждой дозы.

44. Способ получения вектора на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31, включающий

а) культивирование клеток-продуцентов вируса *in vitro* в условиях, подходящих для продуцирования вирусных частиц с оболочкой, где клетки-продуценты вируса содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие одну или более мембраносвязанных иммуносупрессорных молекул, и

б) сбор вирусных векторов с оболочкой.

45. Способ по п.44, где клетки-продуценты вируса содержат экзогенные нуклеиновые кислоты, кодирующие мембраносвязанные иммуносупрессорные молекулы.

46. Способ по п.44 или 45, где клетки-продуценты вируса содержат гетерологичные нуклеиновые кислоты, кодирующие мембраносвязанные иммуносупрессорные молекулы.

47. Способ по любому из пп.44-46, где мембраносвязанные иммуносупрессорные молекулы включают один или более из CTLA4, B7-1, B7-2, PD-1, PD-L1, PD-L2, CD28, VISTA, TIM-3, GAL9, TIGIT, CD155, LAG3, VISTA, BTLA или HVEM.

48. Способ по любому из пп.44-46, где мембраносвязанные иммуносупрессорные молекулы включают CTLA4 и PD-L1, CTLA и PD-L2, CTLA-4 и VISTA, PD-L1 и PD-L2, PD-L1 и VISTA, PD-L2 и VISTA, CTLA4 и PD-L1 и PD-L2, CTLA4 и PD-L1 и VISTA, CTLA4 и PD-L2 и VISTA, PD-L1 и PD-L2 и VISTA, или CTLA4 и PD-L1 и PD-L1 и VISTA.

49. Способ по любому из пп.44-48, где клетки-продуценты вируса содержат гетерологичные нуклеиновые кислоты, кодирующие CTLA-4 и PD-L1.

50. Способ по любому из пп.44-49, где нуклеиновые кислоты, кодирующие одну или более мембраносвязанных иммуносупрессорных молекул временно вводят в клетки-продуценты вируса.

51. Способ по любому из пп.44-49, где нуклеиновые кислоты, кодирующие одну или более мембраносвязанных иммуносупрессорных молекул, стабильно поддерживают в клетках-продуцентах вируса.

52. Способ по п.51, где нуклеиновые кислоты, кодирующие одну или более мембраносвязанных иммуносупрессорных молекул, интегрируют в геном клетки-продуцента вируса.

53. Способ по любому из пп.44-52, где клетки-продуценты вируса содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие одну или более нацеливающих молекул.

54. Способ по любому из пп.44-53, где вектор на основе оболочечного вируса

представляет собой AAV-вектор с оболочкой.

55. Способ по п.54, где клетки-продуценты вируса содержат

с) нуклеиновую кислоту, кодирующую гены гер и сар AAV,

д) нуклеиновую кислоту, кодирующую вирусный геном AAV, содержащий трансген и по меньшей мере один ITR, и

е) хелперные функции AAV.

56. Способ по п.55, где нуклеиновую кислоту, кодирующую гены гер и сар AAV и/или вирусный геном AAV, временно вводят в клеточную линию-продуцент.

57. Способ по п.55, где нуклеиновую кислоту, кодирующую гены гер и сар AAV и/или вирусный геном AAV, стабильно поддерживают в клеточной линии-продуценте.

58. Способ по п.57, где нуклеиновую кислоту, кодирующую гены гер и сар AAV и/или вирусный геном AAV, стабильно интегрируют в геном клеточной линии-продуцента.

59. Способ по любому из пп.44-58, где одна или более хелперных функций AAV обеспечиваются одной или более плазмидами, аденовирусами, нуклеиновой кислотой, стабильно интегрированной в геном клетки, или вирусом простого герпеса (HSV).

60. Способ по любому из пп.44-59, где хелперные функции AAV включают одну или более из функции аденовируса E1A, функции аденовируса E1B, функции аденовируса E2A, функции аденовируса E4 и функции аденовируса VA.

61. Способ по любому из пп.44-59, где хелперные функции AAV включают одну или более из функции HSV UL5, функции HSV UL8, функции HSV UL52 и функции HSV UL29.

62. Способ по любому из пп.44-53, где вектор на основе оболочечного вируса представляет собой лентивирусный вектор.

63. Способ по п.62, где лентивирусный вектор представляет собой вирус иммунодефицита человека, вирус иммунодефицита обезьян или вирус иммунодефицита кошек.

64. Способ по п.62 или 63, где клетки-продуценты вируса содержат

f) нуклеиновую кислоту, кодирующую ген лентивируса gag,

g) нуклеиновую кислоту, кодирующую ген лентивируса pol,

h) нуклеиновую кислоту, кодирующую вектор для переноса лентивируса, содержащий трансген; 5'-длинный концевой повтор (LTR) и 3'-LTR, где вся или часть U3-области 3'-LTR были заменены гетерологичным регуляторным элементом; сайт связывания с праймером; весь ген GAG или его часть; центральную полипуриновую последовательность; синтетические стоп-кодоны в последовательности GAG; элемент, отвечающий на rev и акцептор сплайсинга env.

65. Способ по любому из пп.44-64, где вектор с оболочкой был дополнительно очищен.

66. Набор, содержащий вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 или композицию по п.32.

67. Набор по п.66, дополнительно содержащий инструкции по применению.

68. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 или композиция по п.32 для применения в доставке нуклеиновой кислоты индивидууму.

69. Вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 или композиция по п.32 для применения в лечении заболевания или расстройства у индивидуума.

70. Вектор на основе оболочечного вируса или композиция по п.68 или 69 для применения в доставке нуклеиновой кислоты индивидууму по любому из пп.33-43.

71. Применение вектора на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 или композиции по п.32 в получении лекарственного средства для доставки нуклеиновой кислоты индивидууму, нуждающемуся в этом.

72. Применение вектора на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 или композиции по п.32 в получении лекарственного средства для лечения индивидуума с

заболеванием или расстройством.

73. Применение по п.72, где заболевание или расстройство представляет собой миопатию, вызываемую миотубулярином, спинальную мышечную атрофию, врожденный амавроз Лебера, гемофилию А, гемофилию В, хориоидеремию, болезнь Гентингтона, болезнь Баттена, наследственную невропатию зрительного нерва Лебера, дефицит орнитин-транскарбамилазы (ОТС), болезнь Помпе, болезнь Фабри, цитруллинемию типа 1, фенилкетонурию (ФКУ), адренолейкодистрофию, серповидно-клеточную анемию, болезнь Нимана-Пика или бета-талассемию.

74. Применение по п.73, где заболевание или расстройство представляет собой гемофилию А или гемофилию В.

75. Промышленное изделие, содержащее вектор на основе оболочечного вируса по любому из пп.1-31 или композицию по п.32.

A 4 7 5 9 2 1 0 2 0 2 R U

R U 2 0 2 0 1 2 6 5 7 4 A