

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

29 310

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/02 (2006.01)

B82Y 5/00 (2011.01)

C07K 14/025 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2016-32043**

(22) Přihlášeno: **26.01.2016**

(47) Zapsáno: **22.03.2016**

(73) Majitel:
Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze,
Praha 2, CZ
Dyntec spol. s r.o., Český Brod, CZ

(72) Původce:
doc. RNDr. Jitka Forstová, CSc., Praha 4, CZ
Mgr. Martin Fraiberk, Teplice, CZ
RNDr. Hana Španielová, Ph.D., Zdiby, CZ
MVDr. Ivan Pšikal, CSc., Brno, CZ

(74) Zástupce:
Patentová a známková kancelář Novotný, Ing.
Jaroslav Novotný, Římská 45/2135, 120 00 Praha 2

(54) Název užitého vzoru:
**Vakcína založená na proteinové chimerické
nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2**

CZ 29310 U1

Vakcína založená na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2

Oblast techniky

Technické řešení se týká vakcíny založené na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2, která nahrazuje inaktivovanou virovou vakcínu proti uvedenému viru.

5 Dosavadní stav techniky

Ke dnešku jsou na trhu 4 vakcíny proti prasečímu cirkoviru 2. Francouzská firma Merial vyvinula vakcínu Circovac založenou na inaktivovaném PCV2 viru. Firma Fort Dodge připravila vakcínu spočívající v chimerickém viru PCV1 ve kterém byl gen pro Cap (kapsidový protein) zaměněn za protein z PCV2. Produkty Circoflex (Boehringer, Ingelheim) a Circumvent (Intervet) jsou zalo-
 10 ženy na inaktivovaných chimerických bakulovirech produkujících cirkovirový Cap protein. Vzhledem k vysokým cenám těchto vakcín ani v České republice ani v celé řadě dalších zemí nedochází k plošné vakcinaci. Po levnější účinné vakcinaci je stále poptávka o čemž svědčí provedený průzkum trhu. Chimerická nanočástice – pentamer řízního proteinu VP1 myšího polyomaviru a Cap proteinu prasečího cirkoviru 2 je produkována ve velkých množstvích v hmyzích
 15 buňkách z rekombinantního bakuloviru a díky připojení His-tag kotvě je snadno izolovatelná. Vzhledem k tomu, že se nejedná o virus, není třeba inaktivace. Při podobných vakcinačních účincích jako má nejlepší z dostupných vakcín (Circoflex), bude cena nižší.

Úkolem vynálezce bylo vyvinout vakcínu založenou na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2, která nahrazuje inaktivovanou virovou vakcínu proti uvedenému viru.

20 Podstata technického řešení

Uvedené nedostatky odstraňuje vakcína založená na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2, podle tohoto technického řešení, jehož podstata spočívá v tom, že nano-
 částice je složena z nosiče, který tvoří pentamer kapsidového proteinu VP1 myšího polyomaviru, na který jsou kovalentně připojeny molekuly kapsidového proteinu prasečího cirkoviru 2, neob-
 25 sahující genom (DNA) prasečího cirkoviru 2, ani genom myšího papilomaviru a dále je připojena His-tag kotva. Chimerická nanočástice má kapsidový protein tvořen kmenem prasečího cirkoviru 2B.

K největším výhodám tohoto technického řešení patří jednoduchá příprava, dále to, že chimerická nanočástice není vůbec virulentní z důvodu chybějící genové virové informace. Další výhodou je
 30 snadná izolovatelnost.

Příklady uskutečnění technického řešení

Nanočástice je složena z nosiče, který tvoří pentamer kapsidového proteinu VP1 myšího polyomaviru, na který jsou kovalentně připojeny molekuly kapsidového proteinu prasečího cirkoviru 2 a dále je připojena His-tag kotva. His-tag kotva je řetězec po sobě jdoucích aminokyselin hys-
 35 tidinu. Tento řetězec je schopen vázat dvoumocné ionty kovů, nejčastěji Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} . Tyto ionty jsou ukotveny na nosiči v koloně a umožňují izolaci proteinu. Kapsidový protein je ve výhodném provedení tvořen prasečím cirkovirem 2B (v současnosti nejrozšířenějším kmenem). Chimerická nanočástice se připraví následujícím postupem:

Rekombinantní bakulovirus pro produkci chimerické nanočástice (složené z pentameru řízního proteinu VP1 myšího polyomaviru a Cap proteinu prasečího cirkoviru) v hmyzích buňkách byl
 40 připraven metodou „Bac to Bac“ (Invitrogen). Hmyzí buňky Sf 9 adaptované na kultivaci v bezsérovém mediu se infikují v bioreaktoru inkulem rekombinantního bakuloviru s multiplicitou infekce 10. Po 5 dnech se buněčná suspenze lyzuje, opracuje DNAsou a pentamery se izolují afinitní chromatografií s využitím His-tag kotvy. Rekombinantní bakulovirus není přítomen ve
 45 finálním produktu. Pracuje se pouze s geny pro kapsidové proteiny myšího polyomaviru

a prasečího cirkoviru 2. Při výrobním procesu se nikde nepracuje s kompletními genomy myšího polyomaviru a prasečího cirkoviru 2. Nemůže tudíž dojít k replikaci virů.

Průmyslová využitelnost

- 5 Uvedené technické řešení je využitelné pro prevenci virových chorob v chovech hospodářských zvířat, kde není dostupná (příliš drahá) vakcína, nebo je použití vakcíny riskantní z hlediska možného rozvoje choroby po její aplikaci.

N Á R O K Y N A O C H R A N U

- 10 1. Vakcína založená na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2, **v y - z n a ě u j í c í s e t í m**, že nanočástice je složena z nosiče, který tvoří pentamer kapsidového proteinu VP1 myšího polyomaviru, na který jsou kovalentně připojeny molekuly kapsidového proteinu prasečího cirkoviru 2, přičemž tento neobsahuje genom DNA prasečího cirkoviru 2, ani genom myšího papilomaviru a dále je připojena His-tag kotva.
2. Vakcína podle nároku 1, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že kapsidový protein je tvořen kmenem prasečího cirkoviru 2B.

Konec dokumentu
