

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

(21)(22) Заявка: 2012115661/10, 21.09.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
22.09.2009 US 61/244,786

(43) Дата публикации заявки: 27.10.2013 Бюл. № 30

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 23.04.2012(86) Заявка РСТ:
CA 2010/001488 (21.09.2010)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/035422 (31.03.2011)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулингз Интернэшнл Инк.", Соболеву А.Ю.

(71) Заявитель(и):

МЕДИКАГО ИНК. (СА)

(72) Автор(ы):

**ВЕЗИНА Луи-Филипп (СА),
КУТЮР Манон (СА),
ПАКЕ Дэни (СА),
ДАРГИС Мишель (СА),
Д'АУ Марк-Андре (СА)**(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ РАСТЕНИЙ**

(57) Формула изобретения

1. Способ получения вирусоподобных частиц VLP на основе растений, включающий:
а. получение растения или растительного материала, содержащего VLP,
локализованные в апопласте;

б. продуцирование фракции протопластов/сферопластов и фракции апопласта; и
в. выделение фракции апопласта, причем фракция апопласта содержит VLP на основе
растений.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что на стадии продуцирования (стадии б)
фракции апопласта и протопластов получают обработкой растения или растительного
материала композицией, разрушающей клеточные стенки.

3. Способ по п.2, отличающийся тем, что ферментная композиция, разрушающая
клеточные стенки, содержит одну или более пектиназ, одну или более целлюлаз или
одну или более пектиназ и одну или более целлюлаз.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что ферментная композиция, разрушающая
клеточные стенки, не включает ни одного или более ферментов из ряда липаз, протеаз
или пектиназ.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что на стадии получения (стадии а) растение
трансформируют с помощью нуклеотидной последовательности, кодирующей белок,
выбранный из группы: вирусный оболочечный белок, вирусный структурный белок,
вирусный капсидный белок и белок вирусной оболочки, и растение или растительный

материал собирают.

6. Способ по п.5, отличающийся тем, что нуклеиновую кислоту вводят в растение транзиторно.

7. Способ по п.5, отличающийся тем, что нуклеиновая кислота стабильно интегрируется в геном растения.

8. Способ по п.1, отличающийся тем, что на стадии получения (стадии а) растение выращивают и растение или растительный материал собирают.

9. Способ по п.5, отличающийся тем, что нуклеиновая кислота кодирует гемагглютинин вируса гриппа.

10. Способ по п.1, отличающийся тем, что VLP на основе растений не включают нейраминидазу или М белок.

11. Способ по п.1, отличающийся тем, что растительный материал выбирают из группы листьев и культивируемых растительных клеток.

12. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает стадию г) очистка VLP на основе растений из фракции апопласта.

13. Способ по п.12, отличающийся тем, что стадия очистки включает фильтрацию фракции апопласта глубинной фильтрацией с получением осветленного экстракта с последующей хроматографией осветленного экстракта на катионообменной смоле.

14. Способ получения VLP на основе растений, содержащих растительную липидную оболочку, включающий:

а. получение растения или растительного материала, содержащего VLP, локализованные в апопласте;

б. обработку растения или растительного материала ферментной композицией с продуцированным фракции протопластов/сферопластов и одного или более комплексов белков апопласта, содержащих VLP; и

в. отделение одного или более комплексов белков апопласта от фракции протопластов.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что ферментная композиция содержит одну или более пектиназ, одну или более целлюлаз или одну или более пектиназ и одну или более целлюлаз.

16. Способ по п.14, отличающийся тем, что ферментная композиция не включает ни одного или более ферментов из ряда липаз, протеаз или пектиназ.

17. Способ по п.14, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает стадию г) очистка VLP на основе растений из фракции апопласта.

18. Способ по п.17, отличающийся тем, что стадия очистки включает фильтрацию фракции апопласта глубинной фильтрацией с получением осветленного экстракта с последующей хроматографией осветленного экстракта на катионообменной смоле.

19. Способ по п.14, отличающийся тем, что на стадии получения (стадии а) растение трансформируют с помощью нуклеотидной последовательности, кодирующей белок, выбранный из группы: вирусный оболочечный белок, вирусный структурный белок, вирусный капсидный белок и белок вирусной оболочки, и растение или растительный материал собирают.

20. Способ по п.19, отличающийся тем, что нуклеиновую кислоту вводят в растение транзиторно.

21. Способ по п.19, отличающийся тем, что нуклеиновая кислота стабильно интегрируется в геном растения.

22. Способ по п.14, отличающийся тем, что на стадии получения (стадии а) растение выращивают и растение или растительный материал собирают.

23. Способ по п.19, отличающийся тем, что VLP содержат гемагглютинин вируса гриппа.

24. Способ по п.14, отличающийся тем, что растительный материал выбирают из группы листьев и культивируемых растительных клеток.

25. Способ по п.14, отличающийся тем, что VLP на основе растений не включают нейраминидазу или М белок.

26. Способ получения VLP на основе растений, включающий:

а. получение растения или растительного материала, содержащего VLP, на основе растений;

б. расщепление растительного материала с использованием ферментной композиции, разрушающей клеточные стенки, с получением расщепленной фракции;

в. фильтрацию фракции расщепленного материала с получением отфильтрованной фракции и выделение VLP на основе растений из отфильтрованной фракции.

27. Способ по п.26, отличающийся тем, что ферментная композиция, разрушающая клеточные стенки, содержит одну или более пектиназ, одну или более целлюлаз или одну или более пектиназ и одну или более целлюлаз.

28. Способ по п.27, отличающийся тем, что на стадии получения (стадии а) растение трансформируют с помощью нуклеотидной последовательности, кодирующей белок, выбранный из группы: вирусный оболочечный белок, вирусный структурный белок, вирусный капсидный белок и белок вирусной оболочки, и растение или растительный материал собирают.

29. Способ по п.28, отличающийся тем, что нуклеиновую кислоту вводят в растение транзиторно.

30. Способ по п.28, отличающийся тем, что нуклеиновая кислота стабильно интегрируется в геном растения.

31. Способ по п.28, отличающийся тем, что VLP на основе растений содержат гемагглютинин вируса гриппа.

32. Способ по п.27, отличающийся тем, что растительный материал выбирают из группы листьев и культивируемых растительных клеток.

33. Способ по п.26, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает стадию г) отделение VLP в отфильтрованной фракции от клеточного дебриса и нерастворимых материалов.

34. Способ по п.33, отличающийся тем, что стадию отделения осуществляют центрифугированием.

35. Способ по п.33, отличающийся тем, что стадию отделения осуществляют глубинной фильтрацией.

36. Способ по п.27, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает стадию г) очистка VLP на основе растений из отфильтрованной фракции.

37. Способ по п.34, отличающийся тем, что стадия очистки включает глубинную фильтрацию отфильтрованной фракции с получением осветленного экстракта с последующей хроматографией осветленного экстракта на катионообменной смоле.