



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

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

(21)(22) Заявка: 2015144135, 14.10.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.10.2015Дата регистрации:
11.05.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 14.10.2015

(43) Дата публикации заявки: 20.04.2017 Бюл. № 11

(45) Опубликовано: 11.05.2017 Бюл. № 14

Адрес для переписки:

123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, ФГБУ
"ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи" Минздрава
России, рук. патентно-лицензионной группы
Ф.В. Ваганову

(72) Автор(ы):

Есмагамбетов Ильяс Булатович (RU),
Седова Елена Сергеевна (RU),
Щербинин Дмитрий Николаевич (RU),
Лысенко Андрей (RU),
Шмаров Максим Михайлович (RU),
Логунов Денис Юрьевич (RU),
Народицкий Борис Савельевич (RU),
Гинцбург Александр Леонидович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
учреждение "Федеральный
научно-исследовательский центр
эпидемиологии и микробиологии имени
почетного академика Н.Ф. Гамалеи"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 20130209512 A1, 15.08.2013. US
0008043856 B2, 25.10.2011. US 0008715940 B2,
06.05.2014. RU 2358981 C2, 20.06.2009.

(54) Универсальная противогриппозная вакцина

(57) Формула изобретения

1. Вакцина широкого спектра действия против вируса гриппа А, содержащая рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы на основе аденовируса человека пятого серотипа, несущие под контролем индуцибельного промотора ген полноразмерного белка М2 с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 4 (фиг. 4), при этом аминокислотная последовательность белка представлена SEQ ID NO: 1 (фиг. 1) и ген полноразмерного белка NP с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 5 (фиг. 5), при этом его аминокислотная последовательность модифицирована мотивом PEST и удалением сигнала ядерной локализации и представлена SEQ ID NO: 2 (фиг. 2), и характеризующаяся тем, что гены белков М2 и NP разделены нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 6 (фиг. 6), кодирующей саморасщепляющийся пептид 2А вируса ящура SEQ ID NO: 3 (фиг. 3), обеспечивающий отдельную экспрессию генов белков М2 и NP в общей генетической конструкции.

2. Вакцина по п. 1, характеризующаяся тем, что гены белков М2 (SEQ ID NO: 4) и NP (SEQ ID NO: 5) экспрессируются под контролем индуцибельного промотора Tet-off, позволяющего блокировать экспрессию подконтрольных генов при помощи

антибиотика доксициклина или тетрациклина.

3. Вакцина по п. 1, содержащая на дозу:

- рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц Ad5-tet-M2NP-PEST, экспрессирующих гены белков M2 и NP - 10^6 - 10^9 БОЕ/мл.

- фармацевтически приемлемый буфер - до 0,5 мл.

4. Вакцина по п. 3, содержащая в качестве фармацевтически приемлемого буфера раствор: 10 mM TrisHCl, 75 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, 5% сахараза, 0,05% полисорбат 80, 0,5% этанол, 100 мкМ ЭДТА, pH 8,0.

5. Вакцина по п. 3 вводится преимущественно интраназально в виде капель или спрея.

6. Способ получения вакцины по п. 3, содержащей рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы Ad5-tet-M2NP-PEST, предусматривает создание консенсусных аминокислотных последовательностей белков M2 и NP, модификацию последовательности белка NP мотивом PEST и удалением сигнала ядерной локализации, получение генетической конструкции M2-2A-NP-PEST, экспрессирующей гены этих белков под контролем индуцибельного промотора Tet-off, получение плазмиды pShuttle-tet-M2NP-PEST клонированием генетической конструкции M2-2A-NP-PEST в челночную плазмиду, несущую регуляторные элементы промотора Tet-off, получение плазмиды pAd5-tet-M2NP-PEST при помощи гомологичной рекомбинации плазмиды pShuttle-tet-M2NP-PEST с плазмидой, содержащей геном рекомбинантного аденовируса человека пятого серотипа, трансфекцию плазмиды pAd5-tet-M2NP-PEST в клетки 293HEK, размножение, накопление рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц Ad5-tet-M2NP-PEST в присутствии доксициклина, концентрирование и очистку этих рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц с помощью ультрафильтрации и высокоэффективной жидкостной хроматографии, доведение фармацевтически приемлемым буфером до концентрации 10^6 - 10^9 БОЕ/мл.

R U 2 6 1 8 9 1 8 C 2

R U 2 6 1 8 9 1 8 C 2