

Формула изобретения

1. Выделенный модифицированный белок VP1 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5) для высокоэффективной трансдукции клеток-мишеней, содержащий аминокислотную последовательность белка VP1 капсида AAV5 дикого типа, кодируемую геном *Cap*, с одной или несколькими заменами, которые выбраны из группы:

S651A,

S2A и T711S,

S2A, S651A и T711S.

2. Выделенный модифицированный белок VP1 капсида AAV5 по п. 1, где аминокислотная последовательность белка VP1 капсида AAV5 дикого типа имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 1.

3. Выделенный модифицированный белок VP1 капсида AAV5 по п. 1, который включает одну замену в положении S651A.

4. Выделенный модифицированный белок VP1 капсида AAV5 по п. 3, который имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 2.

5. Выделенный модифицированный белок VP1 капсида AAV5 по п. 1, который включает замены S2A и T711S.

6. Выделенный модифицированный белок VP1 капсида AAV5 по п. 5, который имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 3.

7. Выделенный модифицированный белок VP1 капсида AAV5 по п.1, который включает замены S2A, S651A и T711S.

8. Выделенный модифицированный белок VP1 капсида AAV5 по п. 7, который имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 4.

9. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая модифицированный белок VP1 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5) по любому из пп. 1-8, который используется для высокоэффективной трансдукции клеток-мишеней.

10. Выделенная нуклеиновая кислота по п. 9, кодирующая модифицированный белок VP1 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5) с аминокислотной заменой S651A, которая представлена нуклеиновой последовательностью с SEQ ID NO:

5 или любой другой последовательностью, кодирующей соответствующую аминокислотную последовательность.

11. Выделенная нуклеиновая кислота по п. 9, кодирующая модифицированный белок VP1 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5) с аминокислотными заменами S2A и T711S, которая представлена нуклеиновой последовательностью с SEQ ID NO: 6 или любой другой последовательностью, кодирующей соответствующую аминокислотную последовательность.

12. Выделенная нуклеиновая кислота по п. 9, кодирующая модифицированный белок VP1 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5) с аминокислотными заменами S2A, S651A и T711S, которая представлена нуклеиновой последовательностью с SEQ ID NO: 7 или любой другой последовательностью, кодирующей соответствующую аминокислотную последовательность.

13. Выделенный капсид для высокоэффективной трансдукции клеток-мишеней, который включает модифицированный белок VP1 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5) по любому из пп. 1-8.

14. Выделенный капсид по п. 13, который включает модифицированный белок VP1 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5) по любому из пп. 1-8, белок VP2 капсида AAV5 или его модифицированный вариант и белок VP3 капсида AAV5 или его модифицированный вариант.

15. Выделенный капсид по п. 14, который включает белок VP2 капсида AAV5 дикого типа.

16. Выделенный капсид по п. 15, который включает белок VP2 капсида AAV5 дикого типа, который имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 8.

17. Выделенный капсид по п. 14, который включает модифицированный белок VP2 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5).

18. Выделенный капсид по п. 17, который включает модифицированный белок VP2 капсида AAV5, который содержит замену T575S.

19. Выделенный капсид по п. 18, который включает модифицированный белок VP2 капсида AAV5, который содержит замену T575S, и имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 9.

20. Выделенный капсид по п. 18, который включает модифицированный белок VP2 капсида AAV5, который содержит замены S515A и T575S.

21. Выделенный капсид по п. 20, который включает модифицированный белок VP2 капсида AAV5, который содержит замены S515A и T575S, и имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 10.

22. Выделенный капсид по п. 14, который включает белок VP3 капсида AAV5 дикого типа.

23. Выделенный капсид по п. 22, который включает белок VP3 капсида AAV5 дикого типа, который имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 11.

24. Выделенный капсид по п. 14, который включает модифицированный белок VP3 капсида аденоассоциированного вируса 5 серотипа (AAV5).

25. Выделенный капсид по п. 24, который включает модифицированный белок VP3 капсида AAV5, который содержит замену T519S.

26. Выделенный капсид по п. 25, который включает модифицированный белок VP3 капсида AAV5, который содержит замену T519S, и имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 12.

27. Выделенный капсид по п. 24, который включает модифицированный белок VP3 капсида AAV5, который содержит замены S459A и T519S.

28. Выделенный капсид по п. 27, который включает модифицированный белок VP3 капсида AAV5, который содержит замены S459A и T519S, и имеет аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO: 13.

29. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая капсид по любому из пп. 13-28, который используется для высокоэффективной трансдукции клеток-мишеней.

30. Вектор на основе рекомбинантного аденоассоциированного вируса 5 серотипа (rAAV5) для доставки субъекту гетерологичной последовательности нуклеиновой кислоты, который включает:

- 1) капсид по любому из пп. 13-28, и
- 2) гетерологичную последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую регуляторные последовательности, которые обеспечивают экспрессию продукта,

кодируемого гетерологичной последовательностью нуклеиновой кислоты, в целевых клетках.

31. Вектор на основе rAAV5 по п. 30, где продукт экспрессии гетерологичной последовательности нуклеиновой кислоты представляет собой терапевтический полипептид или репортерный полипептид.

32. Вектор на основе rAAV5 по п. 31, где терапевтический полипептид представляет собой фактор свертывания крови, выбираемый из группы, состоящей из фактора VIII, фактора IX или их функционального варианта.

33. Вектор на основе rAAV5 по п. 32, где терапевтический пептид представляет собой фактор VIII или его функциональный вариант.

34. Вектор на основе rAAV5 по п. 32, где терапевтический пептид представляет собой фактор IX или его функциональный вариант.

35. Фармацевтическая композиция для доставки генного продукта нуждающемуся в этом субъекту, содержащая:

а) вектор на основе rAAV5 по любому из пп. 30-34; и

б) фармацевтически приемлемый эксципиент.

36. Фармацевтическая композиция по п. 35, где субъект представляет собой человека.

37. Способ доставки генного продукта нуждающемуся в этом субъекту, который включает введение субъекту вектора на основе rAAV5 по любому из пп. 30-34 или фармацевтической композиции по п. 35.

38. Способ доставки генного продукта по п. 37, где субъект представляет собой человека.

39. Применение вектора на основе rAAV5 по любому из пп. 30-34 или фармацевтической композиции по п. 35 для лечения заболевания у нуждающегося в этом субъекта.

40. Применение по п. 39, где субъект представляет собой человека.

41. Применение по п. 39, где заболевание выбирают из группы: заболевания крови; заболевания центральной нервной системы; заболевания метаболизма; заболевания мышц; наследственные заболевания.

42. Применение по п. 41, где заболевание представляет собой заболевание крови.

43. Применение по п. 42, где продукт экспрессии гетерологичной последовательности нуклеиновой кислоты представляет собой фактор IX или его функциональный вариант.

44. Применение по п. 42, где продукт экспрессии гетерологичной последовательности нуклеиновой кислоты представляет собой фактор VIII или его функциональный вариант.

45. Применение по п. 41, где заболевание представляет собой заболевание мышц.

46. Применение по п. 41, где заболевание представляет собой наследственное заболевание.

47. Способ получения вектора на основе gAAV5 по любому из пп. 30-34, который включает трансфекцию клеток-продуцентов нуклеиновой кислотой по п. 29.