



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2021113126, 05.05.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
05.05.2016 US 62/332,245(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:
2018142797 04.12.2018

(43) Дата публикации заявки: 20.08.2021 Бюл. № 23

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городиский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

БЕНИТЕК БАЙОФАРМА ЛИМИТЕД
(AU)

(72) Автор(ы):

МАО, Тин (US),
СЬЮХИ, Дэвид (US)(54) **СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА В (HВV) И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(57) Формула изобретения

1. Нуклеиновая кислота, кодирующая короткоцепочечную шпилечную микро-РНК (shmiR), содержащая последовательность ДНК, которая кодирует короткоцепочечную шпилечную микро-РНК (shmiR), где указанная shmiR содержит:

эффекторную последовательность длиной по меньшей мере из 17 нуклеотидов;
комплементарную последовательность эффектора;
последовательность структуры типа "стебель-петля"; и
каркас первичной микро-РНК (pri-miRNA);

где эффекторная последовательность по существу комплементарна транскрипту РНК, представленному в SEQ ID NO: 9.

2. Нуклеиновая кислота по п. 1, в которой shmiR выбрана из группы, состоящей из: shmiR, содержащей эффекторную последовательность, которая по существу комплементарна последовательности, представленной в SEQ ID NO:34 с исключением 1, 2, 3, 4, 5 или 6 оснований с ошибочным спариванием, при условии, что эффекторная последовательность способна образовывать дуплекс с последовательностью, представленной в SEQ ID NO:34;

shmiR, содержащей эффекторную последовательность, представленную в SEQ ID NO:33 комплементарную последовательность эффектора, которая по существу комплементарна последовательности, представленной в SEQ ID NO:33, и способна образовывать с ней дуплекс; и

shmiR, содержащей эффекторную последовательность, представленную в SEQ ID NO:33, и комплементарную последовательность эффектора, представленную в SEQ ID NO:34.

3. Нуклеиновая кислота по п. 1 или 2, в которой shmiR содержит в направлении от

5' к 3':

5'-фланкирующую последовательность каркаса pri-miRNA;
комплементарную последовательность эффектора;
последовательность структуры типа "стебель-петля";
эффекторную последовательность; и
3'-фланкирующую последовательность каркаса pri-miRNA.

4. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 1-3, в которой последовательность структуры типа "стебель-петля" представляет собой последовательность, представленную в SEQ ID NO:75.

5. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 1-4, в которой каркас pri-miRNA представляет собой каркас pri-miR-30a.

6. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 3-5, в которой 5'-фланкирующая последовательность каркаса pri-miPHK представлена в SEQ ID NO:76, и 3'-фланкирующая последовательность каркаса pri-miRNA представлена в SEQ ID NO:77.

7. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 3-5, в которой shmiR содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 54.

8. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 1-7, в которой последовательность ДНК, которая кодирует shmiR, представлена в SEQ ID NO: 70.

9. Конструкт для направленной на ДНК РНК-интерференции (ddRNAi), содержащий нуклеиновую кислоту по любому из пп. 1-8.

10. Конструкт ddRNAi по п. 9, содержащий:

(a) по меньшей мере, одну нуклеиновую кислоту по любому из пп. 1-8; и

(b) по меньшей мере одну дополнительную нуклеиновую кислоту, выбранную из:

(i) нуклеиновой кислоты, содержащей последовательность ДНК, которая кодирует короткоцепочечную шпилечную РНК (shmirR), при этом shmiR содержит:
эффекторную последовательность длиной по меньшей мере из 17 нуклеотидов;
эффекторную комплементарную последовательность;
последовательность структуры типа "стебель-петля"; и
каркас первичной микро-РНК (pri-miRNA);

где эффекторная последовательность по существу комплементарна транскрипту РНК, представленному в любой из SEQ ID NO: 4, 40, 1-3, 5-8, 10, 38 и 42; или

(ii) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую короткоцепочечную шпилечную РНК (shRNA), содержащую эффекторную последовательность длиной по меньшей мере из 17 нуклеотидов, и комплементарную последовательность эффектора, где эффекторная последовательность по существу комплементарна транскрипту РНК, представленному в любой из SEQ ID NO: 4, 40, 1-3, 5-8, 10, 38 и 42;

где shmiR, кодируемая нуклеиновой кислотой, указанной в (a), и shmiR или shRNA кодируемая нуклеиновой кислотой, указанной в (b), содержат различные эффекторные последовательности;

где конструкт содержит вплоть до 10 нуклеиновых кислот.

11. Конструкт ddRNAi по п. 9 или 10, содержащий:

(a) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую эффекторную последовательность, которая по существу комплементарна транскрипту РНК, содержащему или состоящему из последовательности, представленной в SEQ ID NO:9; и нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую эффекторную последовательность, которая по существу комплементарна транскрипту РНК, содержащему или состоящему из последовательности, представленной в SEQ ID NO:4;

(b) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую

13. Конструкт ddRNAi по любому из пп. 9-12, содержащий:

(a) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:54; и

нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:48;

(b) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:54; и

нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:57;

(c) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:48;

нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:57; и

нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:54;

(d) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO: 70; и

нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO: 64;

(e) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO: 70; и

нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO: 73; или

(f) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO: 64;

нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO: 73; и

нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность ДНК, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO: 70.

14. Конструкт ddRNAi по любому из пп. 9-13, содержащий в направлении от 5' к 3':

(a) нуклеиновую кислоту, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:48;

(b) нуклеиновую кислоту, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:57; и

(c) нуклеиновую кислоту, кодирующую shmiR, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:54.

15. Конструкт ddRNAi по любому из пп. 9-14, где указанный конструкт ddRNAi содержит в направлении от 5' к 3':

(a) нуклеиновую кислоту, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:64;

(b) нуклеиновую кислоту, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:73; и

(c) нуклеиновую кислоту, содержащую или состоящую из последовательности, представленной в SEQ ID NO:70.

16. Конструкт ddRNAi по любому из пп. 9-15, содержащий промотор РНК pol III расположенный выше каждой нуклеиновой кислоты, кодирующей shmiR или shRNA.

17. Конструкт ddRNAi по п. 16, в котором один или каждый промотор РНК pol III выбран из промотора U6 и промотора H1.
18. Конструкт ddRNAi по п. 17, в котором промотор U6 выбирают из промотора U6-9, промотора U6-1 и промотора U6-8.
19. Экспрессирующий вектор, содержащий конструкт ddRNAi по любому из пп. 9-18.
20. Экспрессирующий вектор по п. 19, где вектор или каждый экспрессирующий вектор представляет собой плазмиду или мини-кольцо.
21. Экспрессирующий вектор по п. 19, где вектор или каждый экспрессирующий вектор представляет собой вирусный вектор, выбранный из группы, состоящей из аденоассоциированного вирусного (AAV) вектора, ретровирусного вектора, аденовирусного вектора (AdV) и лентивирусного вектора (LV).
22. Экспрессирующий вектор по п. 21, где экспрессирующий вектор представляет собой AAV.
23. Композиция для лечения инфекции вируса гепатита В (HBV) у субъекта, содержащая эффективное количество конструкта для направленной на ДНК РНК-интерференции (ddRNAi) по любому из пп. 9-18, или экспрессирующий вектор по любому из пп. 19-22.
24. Композиция по п. 23, дополнительно содержащая один или несколько фармацевтически приемлемых носителей.
25. Композиция по п. 23 или 24, дополнительно содержащая эффективное количество одного или более других терапевтических агентов, известных для лечения инфекции HBV, выбранных из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, адефовира и пэгилированного интерферона.
26. Способ лечения инфекции вируса гепатита В (HBV) у субъекта, где указанный способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, или конструкта ddRNAi по любому из пп. 9-18, или экспрессирующего вектора по любому из пп. 19-22, или композиции по любому из пп. 23-25.
27. Способ по п. 26, в котором субъект страдает от острой инфекции HBV.
28. Способ по п. 26, в котором субъект страдает от хронической инфекции HBV.
29. Способ снижения вирусной нагрузки гепатита В у субъекта, инфицированного вирусом гепатита В (HBV), где указанный способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, или конструкта ddRNAi по любому из пп. 9-18, или экспрессирующего вектора по любому из пп. 19-22, или композиции по любому из пп. 23-26.
30. Способ снижения тяжести симптомов, связанных с инфекцией вируса гепатита В (HBV) у субъекта, страдающего от нее, где указанный способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, или конструкта ddRNAi по любому из пп. 9-18, или экспрессирующего вектора по любому из пп. 19-22, или композиции по любому из пп. 23-25.
31. Способ снижения инфекционности вируса гепатита В (HBV) у субъекта, инфицированного им, где указанный способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, или конструкта ddRNAi по любому из пп. 9-18, или экспрессирующего вектора по любому из пп. 19-22 или композиции по любому из пп. 23-25.
32. Способ по любому из пп. 26-31, где указанный способ включает ингибирование или снижение экспрессии одного или более генов HBV.
33. Способ по любому из пп. 26-32, где нуклеиновую кислоту по любому из пп. 1-8, или конструкт ddRNAi по любому из пп. 9-18, или экспрессирующий вектор по любому

из пп. 19-22, или композицию по п. 23 или 24 вводят вместе с эффективным количеством дополнительного терапевтического средства для лечения инфекции HBV, выбранного из группы, состоящей из энтекавира, тенофовира, ламивудина, адефовира и пэгилированного интерферона.

R U 2 0 2 1 1 1 1 1 1 3 1 1 3 1 2 6 9 2 1 1 3 1 2 6 A

R U 2 0 2 1 1 1 1 1 1 3 1 2 6 A