

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

Zveřejněná podle §31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2016-37

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

A61K 35/76 (2015.01)
A61K 39/12 (2006.01)
C12N 7/01 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **26.01.2016**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **02.08.2017**
(Věstník č. 31/2017)

- (71) Přihlašovatel:
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 Pšíkal, CSc., Brno, CZ
- (74) Zástupce:
Patentová a známková kancelář Novotný, Ing.
Jaroslav Novotný, Římská 45/2135, 120 00 Praha 2

(54) Název přihlášky vynálezu:
Vakcína založená na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2

(57) Anotace:
Vakcína založená na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2, kdy nanočástice je složena z nosiče, který tvoří pentamer kapsidového proteinu VPI 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. Vakcína má kapsidový protein tvořen kmenem prasečího cirkoviru 2B.

CZ 2016 - 37 A3

Vakcína založená na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2

Oblast techniky

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

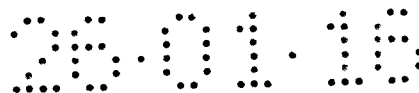
Dosavadní stav techniky

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 založeny 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 fúzního proteinu VP1 myšího polyomaviru a Cap proteinu prasečího cirkoviru 2 je produkována ve velkých množstvích v hmyzích buňkách z rekombinantního bakuloviru a díky připojené 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 vynálezců bylo vyvinout vakcínu založenou na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2, která nahrazuje inaktivovanou virovou vakcínu proti uvedenému viru.

Podstata technického řešení

Uvedené nedostatky odstraňuje vakcína založená na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2, podle tohoto vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, 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, neobsahující 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 vynálezu patří jednoduchá příprava, dále to, že chimerická nanočástice není vůbec virulentní z důvodu chybějící genové virové informace. Další výhodou je snadná izolovatelnost.

Příklady uskutečnění vynálezu

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 hystidinu. 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 fůzního proteinu VP1 myšího polyomaviru a Cap proteinu prasečího cirkoviru) v hmyzích buňkách byl připraven metodou „Bac to Bac“ (Invitrogen). Hmyzí buňky Sf 9 adaptované na kultivaci v bezsérovém mediu se infikují v bioreaktoru inokulem 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 finálním produktu. Pracuje se pouze s geny pro kapsidové proteiny myšího polyomaviru a prasečího cirkoviru 2. Při výrobním procesu se nikde neparcuje s kompletními genomy myšího polyomaviru a prasečího cirkoviru 2. Nemůže tudíž dojít k replikaci virů.

Průmyslová využitelnost

Uvedený vynález je využitelný 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.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Vakcína založená na proteinové chimerické nanočástici proti prasečímu cirkoviru 2, v y z n a č 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 č u j í c í s e t í m , že kapsidový protein je tvořen kmenem prasečího cirkoviru 2B.