

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 752**

51 Int. Cl.:

A01K 67/033 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

C12N 15/866 (2006.01)

C07K 14/005 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE REIVINDICACIONES DE SOLICITUD DE
PATENTE EUROPEA

T1

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.12.2013** **E 13811407 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **14.10.2015** **EP 2928290**

30 Prioridad:

07.12.2012 EP 12196120

46 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de las reivindicaciones de la solicitud:
23.12.2015

71 Solicitantes:

ALTERNATIVE GENE EXPRESSION, S.L. (100.0%)
Campus de Montegancedo
28223 Pozuelo de Alarcón, Madrid, ES

72 Inventor/es:

GÓMEZ SEBASTIÁN, SILVIA;
LÓPEZ VIDAL, JAVIER y
MARTÍNEZ ESCRIBANO, JOSÉ ÁNGEL

74 Agente/Representante:

MARTÍN BADAJOZ, Irene

54 Título: **Sistema de baculovirus para expresar proteínas que forman partículas pseudovirales**

REIVINDICACIONES

- 5 1. Casete de expresión que comprende secuencias de ácido nucleico que permiten la expresión de los reguladores transcripcionales IE-1 y/o IE-0 por encima de los niveles endógenos obtenidos durante la infección por baculovirus y la expresión de una proteína recombinante,
10 en el que la expresión de la proteína recombinante está dirigida por un promotor que comprende el promotor *p10* de baculovirus y
en el que la proteína recombinante es una proteína de partícula pseudoviral.
- 15 2. Casete de expresión según la reivindicación 1, en el que la proteína recombinante es cualquier proteína de partícula pseudoviral seleccionada del grupo que consiste en:
(a) proteína de la cápside de circovirus porcino, preferiblemente de circovirus porcino tipo 2,
(b) proteína VP1, VP3 o VP0 del virus de la fiebre aftosa,
20 (c) proteínas VP1 y VP2 de parvovirus canino,
(d) proteínas VP1 y VP2 de parvovirus porcino,
(e) proteína de la cápside de norovirus humano (genogrupo I o II),
(f) proteína de la cápside de calicivirus,
(g) proteína L1 del virus del papiloma humano, preferiblemente del virus del papiloma humano 16,
30 (h) proteína E2 de la hepatitis E,
(i) proteínas VP1, VP2 y VP3 del virus de la bursitis infecciosa,
(j) proteínas codificadas por ORF2 de astrovirus,
35 (k) proteínas HA, NA y M1 del virus influenza,
(l) antígenos de superficie y central de la hepatitis B,
40 (m) proteínas VP1 y VP2 de parvovirus, y
(n) proteína VP60 de calicivirus de conejo, preferiblemente del virus de la enfermedad hemorrágica del conejo.
- 45 3. Casete de expresión según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para las proteínas IE-1 y/o IE-0 seleccionadas del grupo que consiste en:
(a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-5;
50 (b) secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-5 y que codifica para una proteína que funciona como regulador transcripcional en un baculovirus;
55 (c) secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína con la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 6-9; y
(d) secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína que funciona como regulador transcripcional en un baculovirus y que tiene una similitud de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 6-9.
- 60 4. Casete de expresión según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el promotor que dirige la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
65

- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 10-16; y
- 5 (b) secuencia de ácido nucleico que funciona como promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 10-16.
- 10 5. Casete de expresión según la reivindicación 4, en el que el promotor que dirige la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 15 y 16; y
- 15 (b) secuencia de ácido nucleico que funciona como promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 15 y 16.
- 20 6. Casete de expresión según la reivindicación 4 ó 5, en el que el promotor que dirige la expresión de la proteína recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 11; y
- 25 (b) secuencia de ácido nucleico que funciona como promotor en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 11.
- 30 7. Casete de expresión según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que comprende al menos una región homóloga recombinante (*hr*) como región potenciadora, unida operativamente al promotor que dirige la expresión de la proteína recombinante.
- 35 8. Casete de expresión según la reivindicación 7, en el que la región homóloga recombinante (*hr*) se selecciona del grupo de secuencias de ácido nucleico que consisten en:
- (a) secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 27; y
- 40 (b) secuencia de ácido nucleico que funciona como región homóloga potenciadora en un baculovirus y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en SEQ ID NO: 27.
- 45 9. Casete de expresión según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende una secuencia de ácido nucleico que está unida operativamente a la expresión de la proteína recombinante y seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico que contiene la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 17-22, 25 y 26 y
- 50 (b) secuencia de ácido nucleico que conserva sustancialmente la actividad de los elementos funcionales y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 17-22, 25 y 26.
- 55 10. Casete de expresión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) secuencia de ácido nucleico que contiene la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 51-56; y
- 60 (b) secuencia de ácido nucleico que conserva sustancialmente la actividad de los elementos funcionales y que tiene una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente al menos el 80%, más preferiblemente al menos el 90% y lo más preferiblemente al menos el 95% con la secuencia de ácido nucleico indicada en cualquiera de SEQ ID NO: 51-56.
- 65 11. Vector de clonación, vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula o insecto que

comprende el casete de expresión según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el vector de transferencia comprende además una secuencia de ácido nucleico adecuada para la integración o transposición en un genoma de baculovirus.

- 5 12. Medio de cultivo que comprende el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido o baculovirus recombinante según cualquiera de las reivindicaciones 1-11.
13. Método para producir una proteína recombinante que comprende usar el casete de expresión, vector de clonación, vector de transferencia, bácmido, baculovirus recombinante, célula o insecto según cualquiera de
10 las reivindicaciones 1-11 y extraer y purificar la proteína recombinante mediante medios convencionales.
14. Proteína recombinante que puede obtenerse mediante el método según la reivindicación 13.
15. Proteína recombinante según la reivindicación 14 para su uso en un método de tratamiento, terapia o
15 diagnóstico, tal como vacunación.

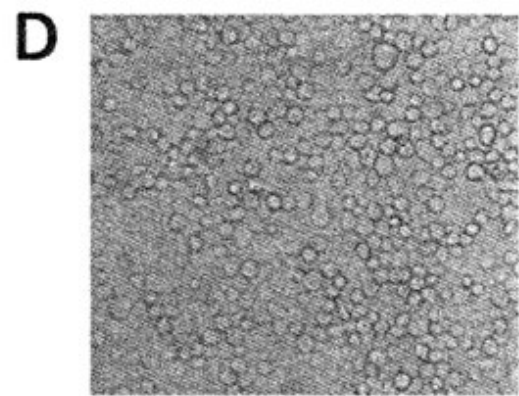
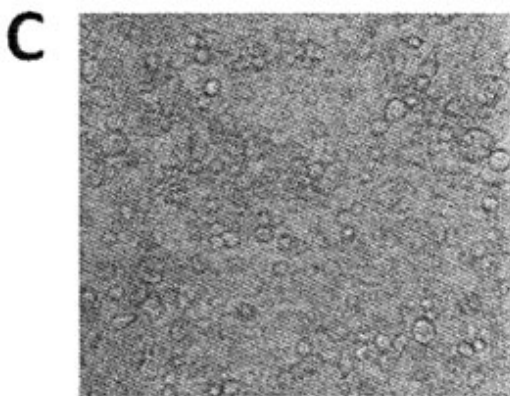
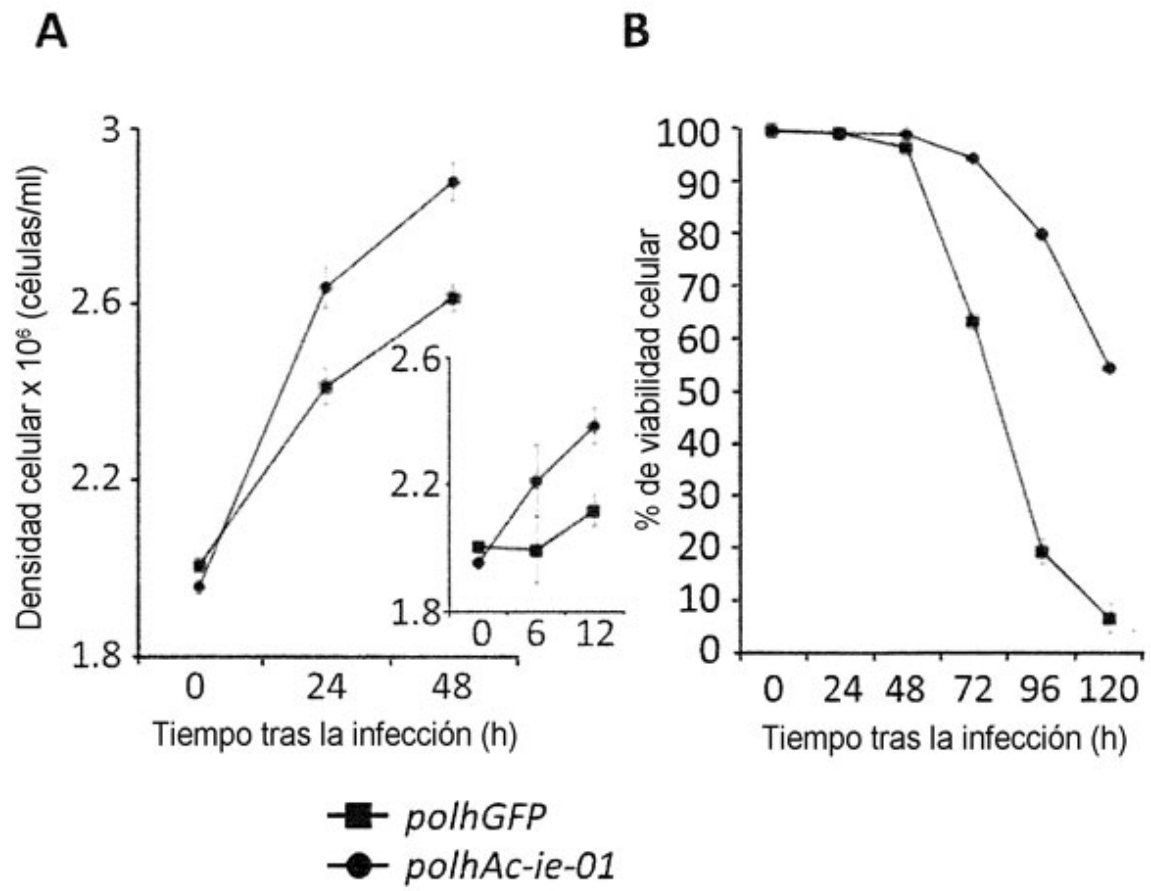


Figura 1

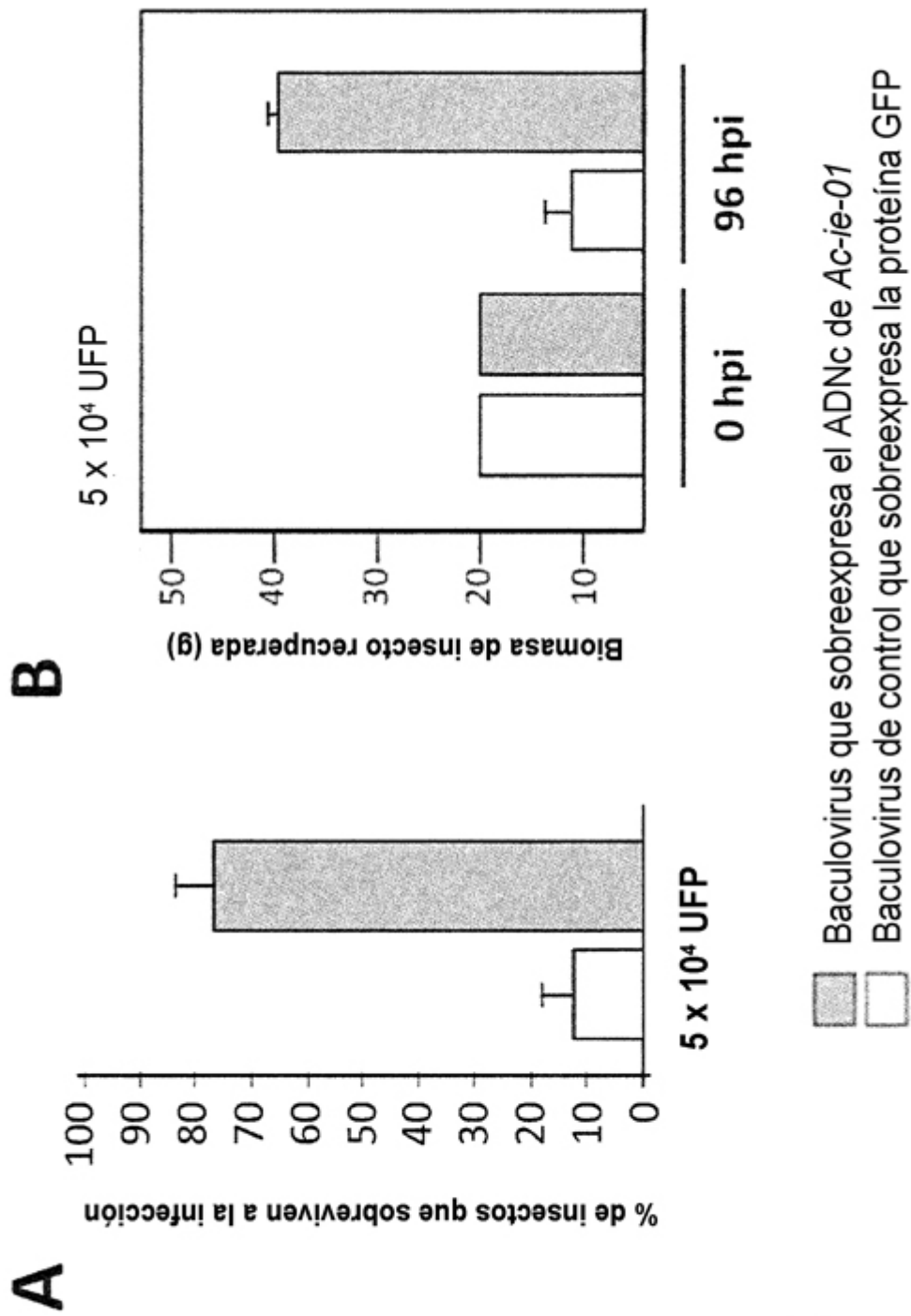


Figura 2

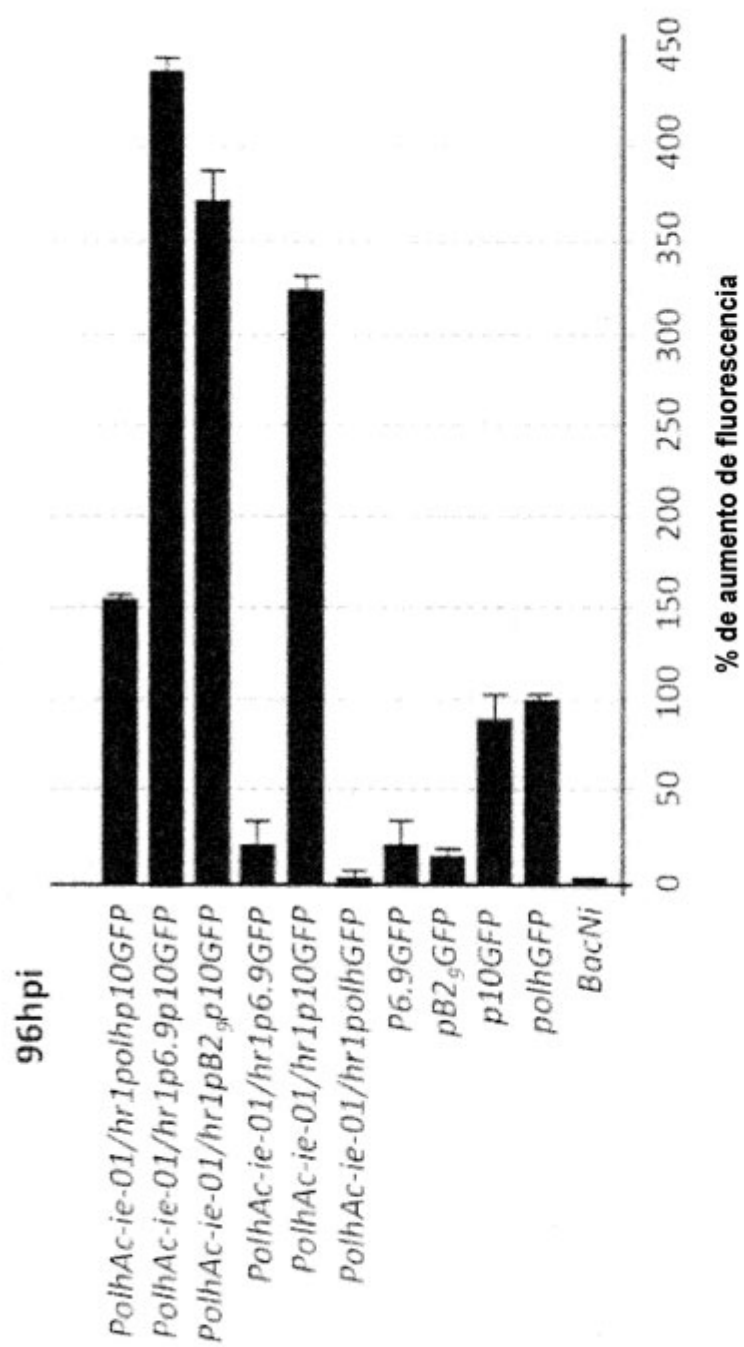


Figura 3

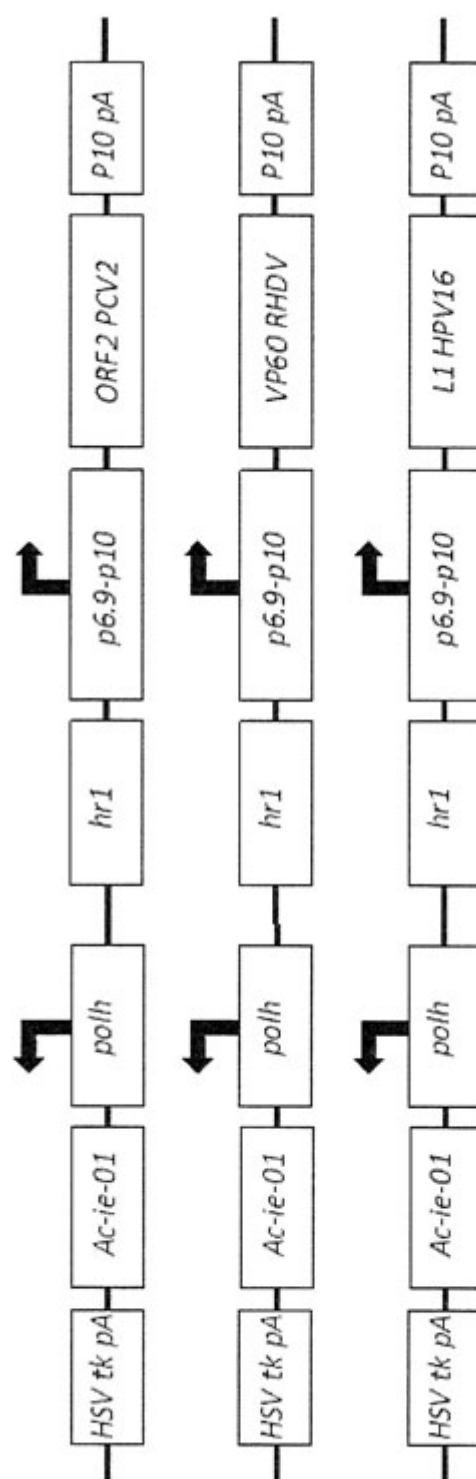


Figura 4

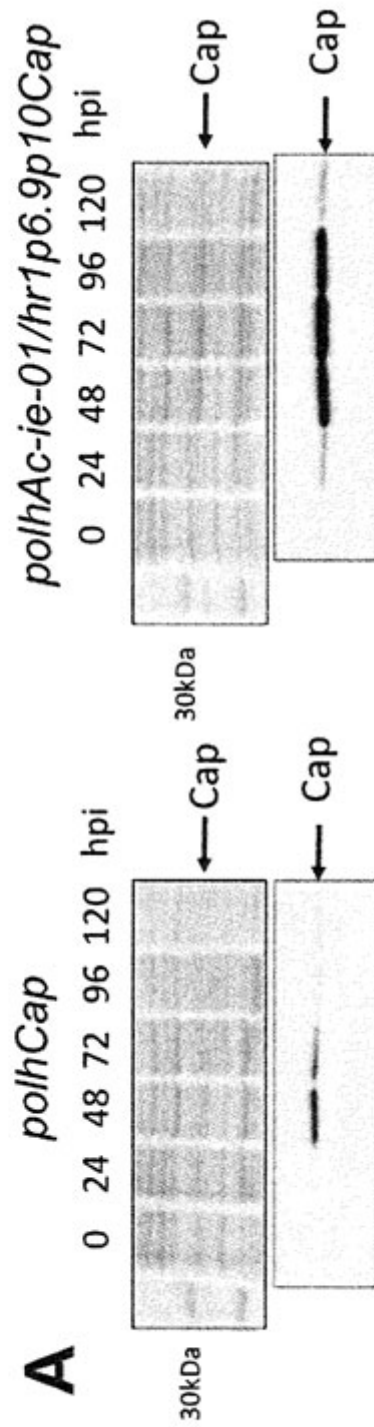


Figura 5

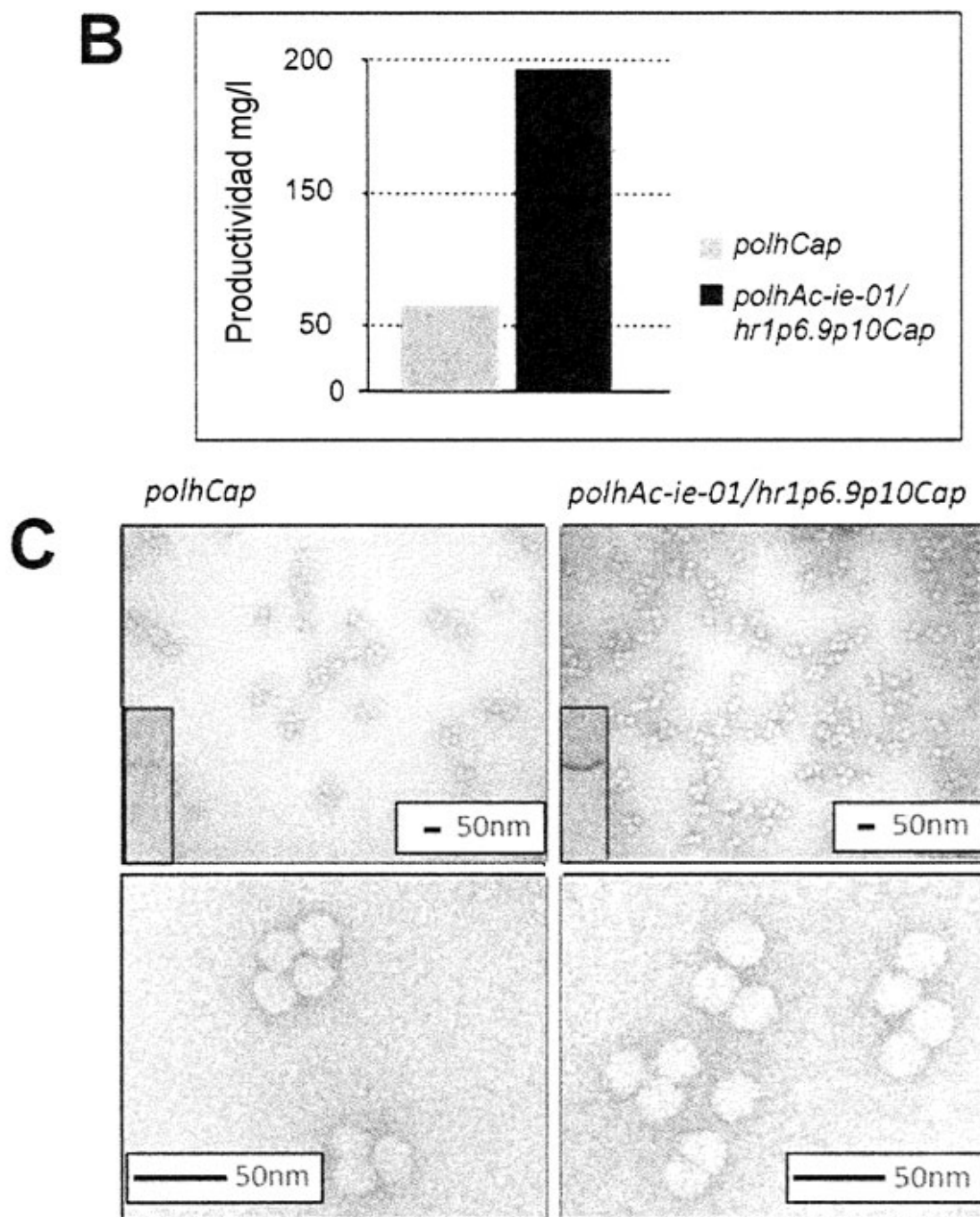


Figura 5

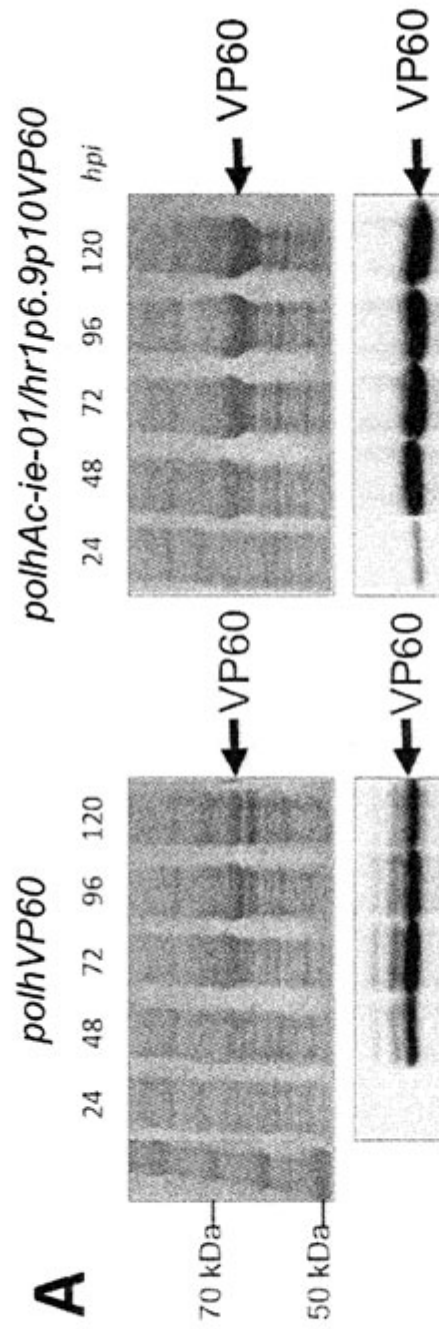


Figura 6

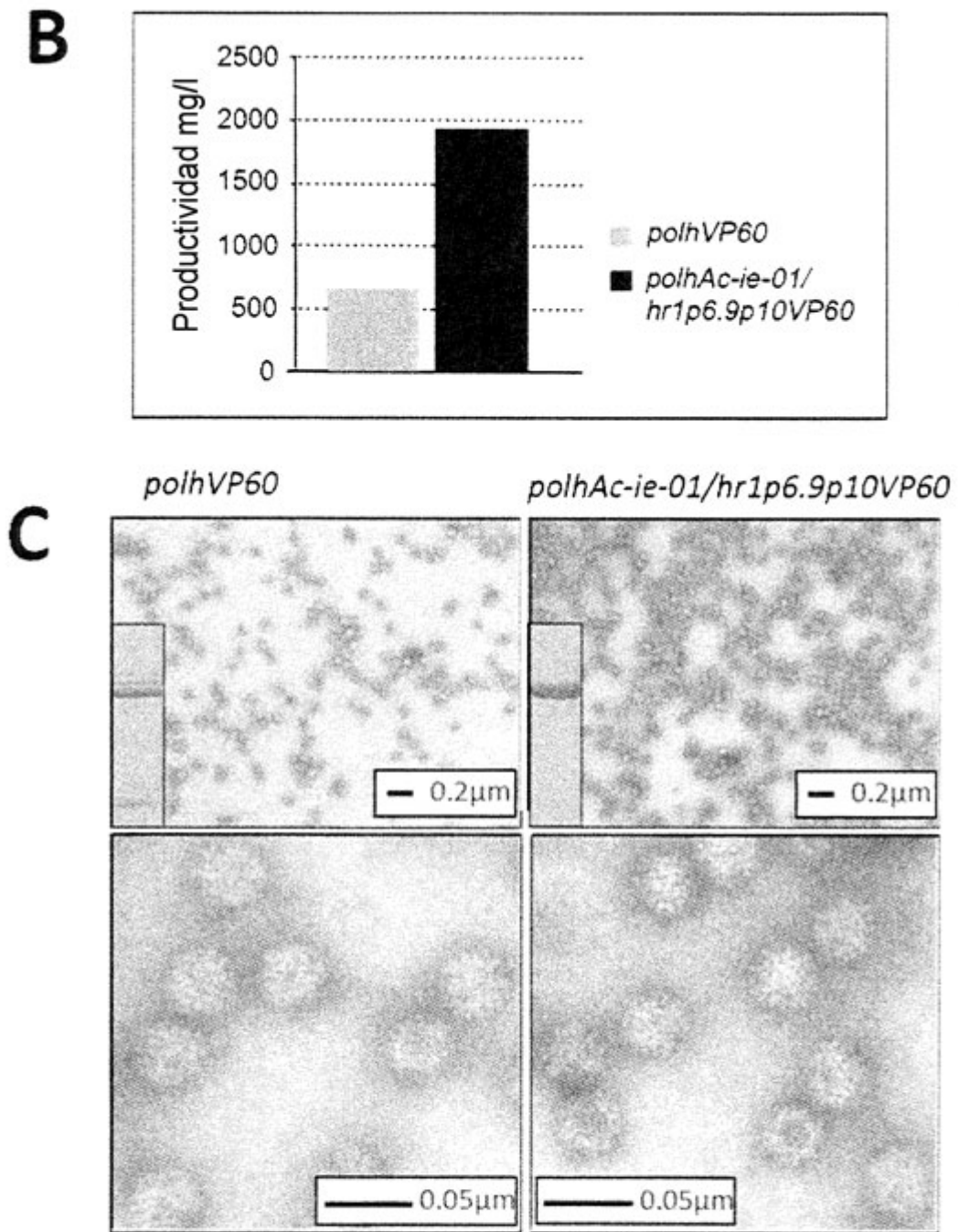


Figura 6

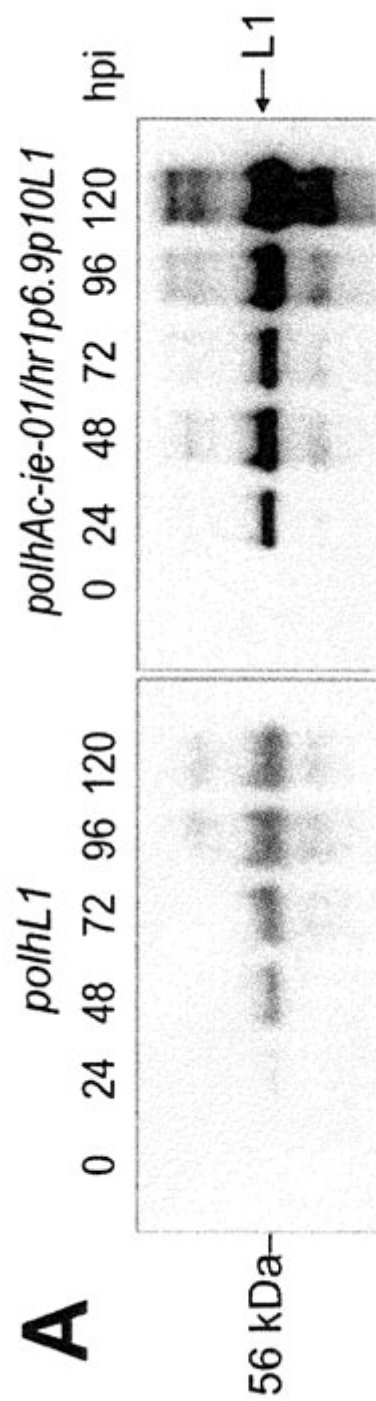


Figura 7

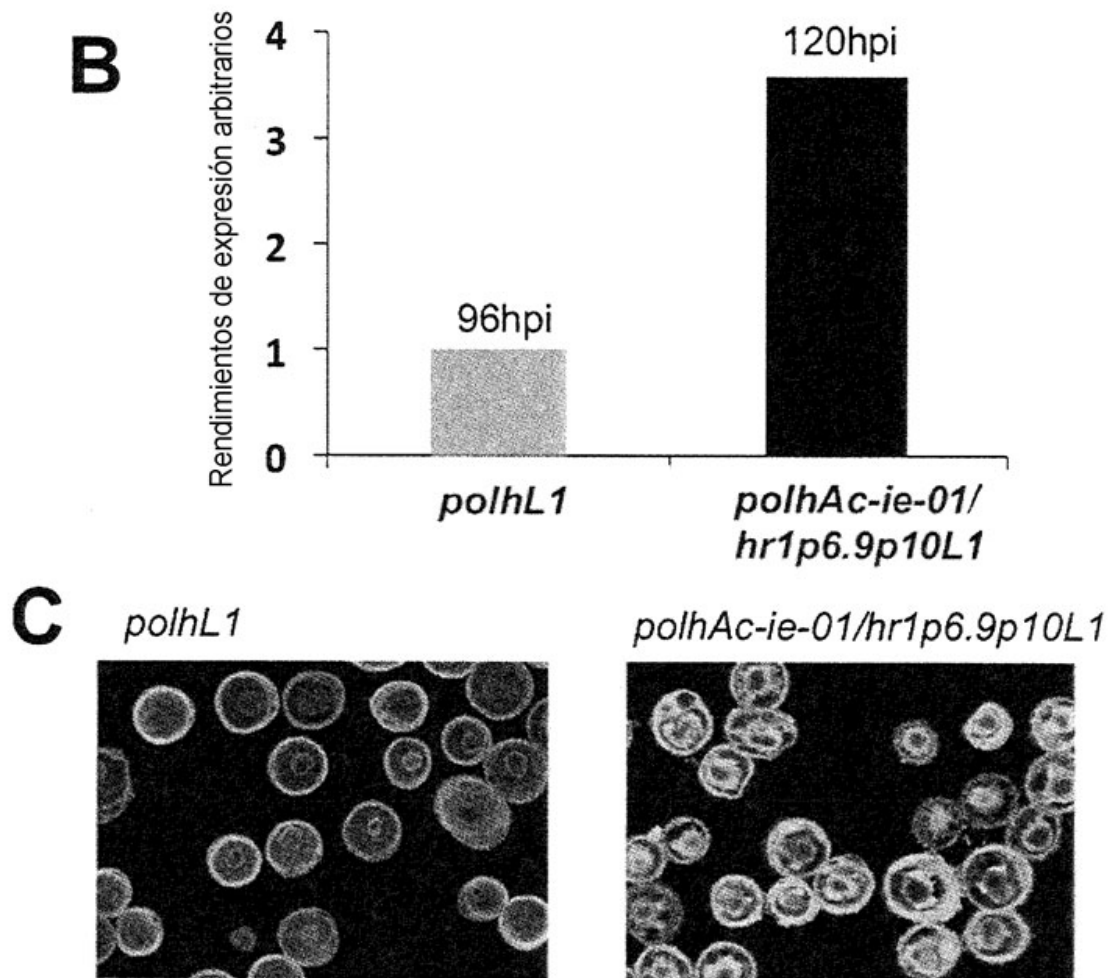


Figura 7

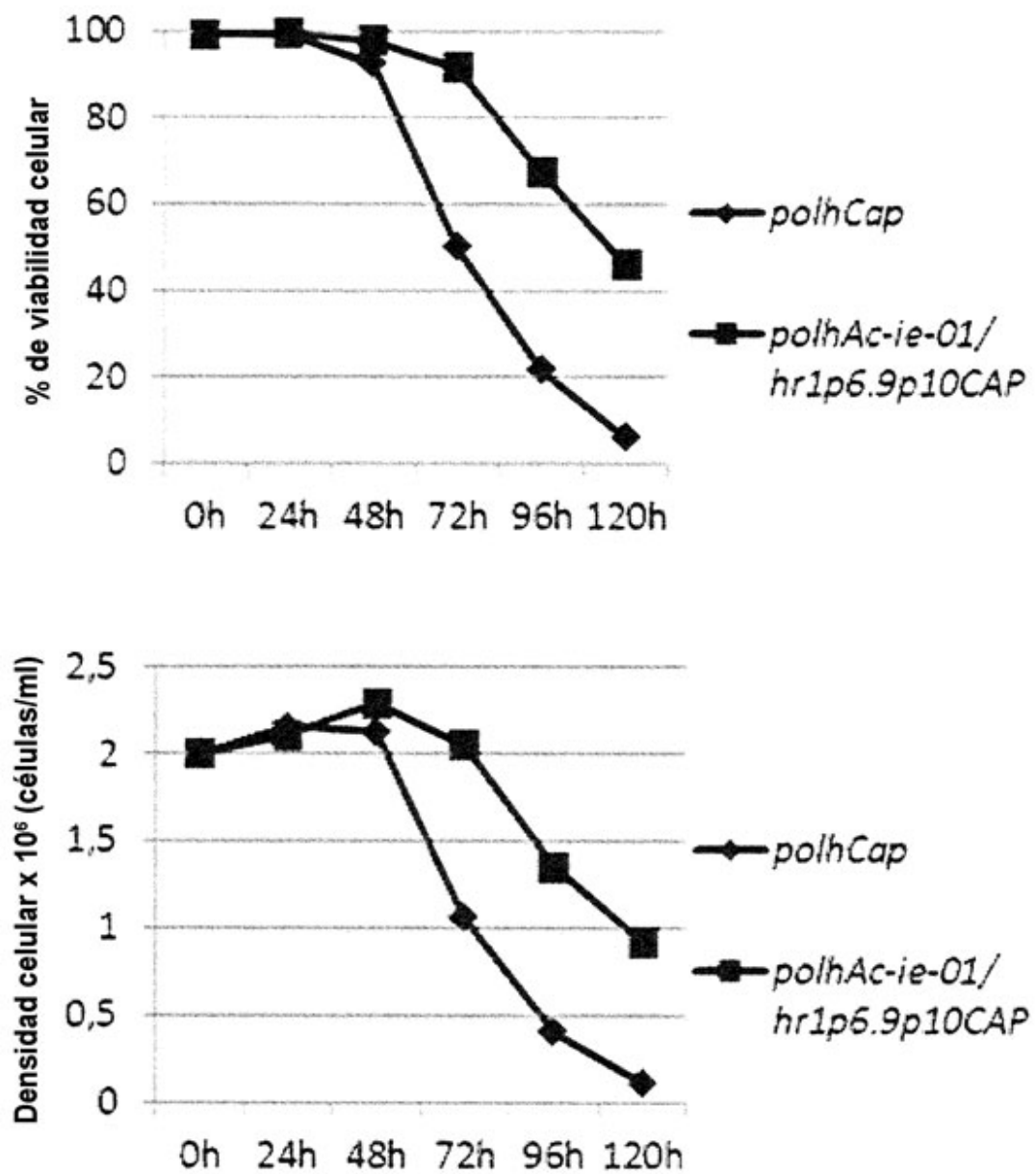


Figura 8A

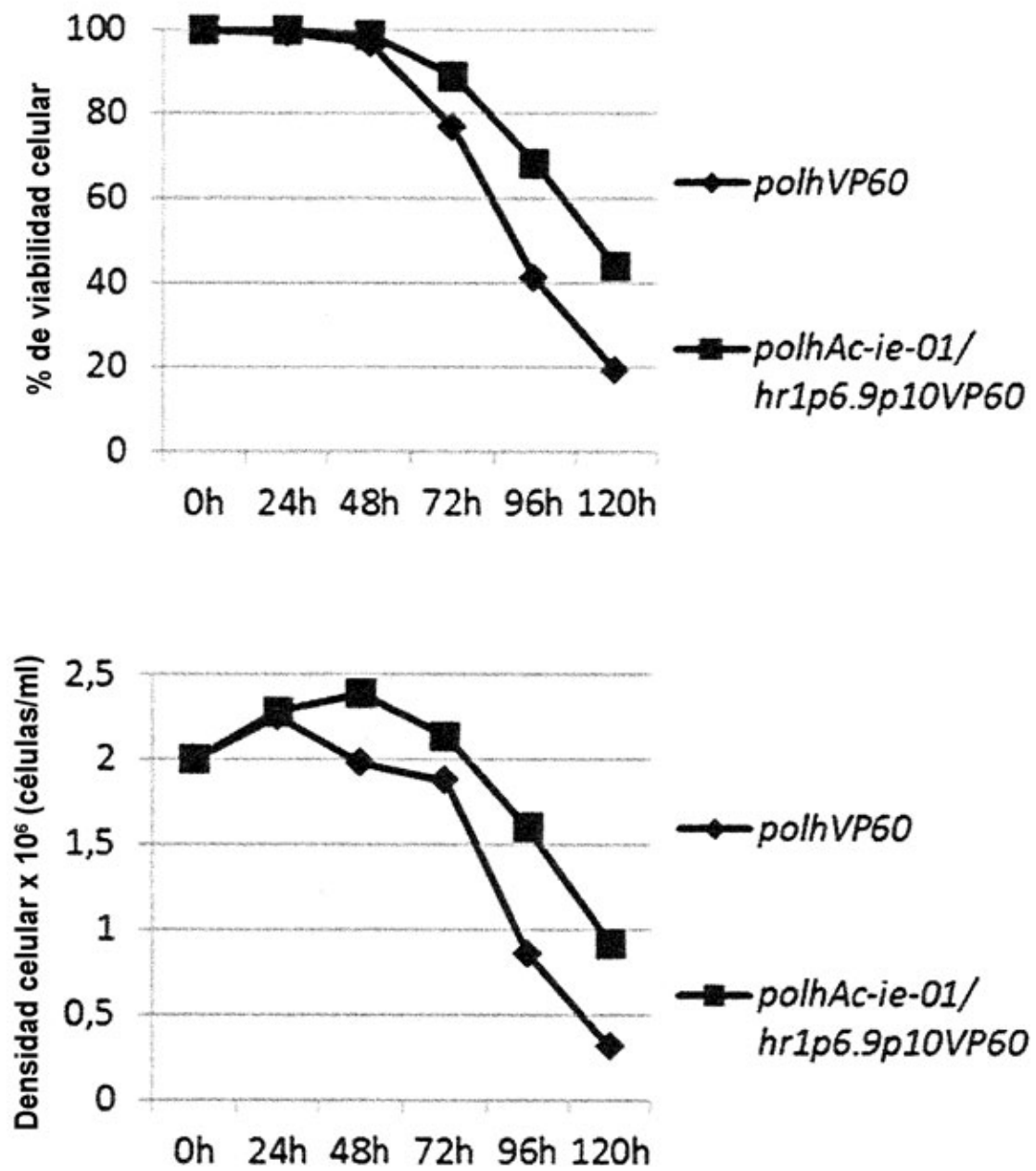


Figura 8B

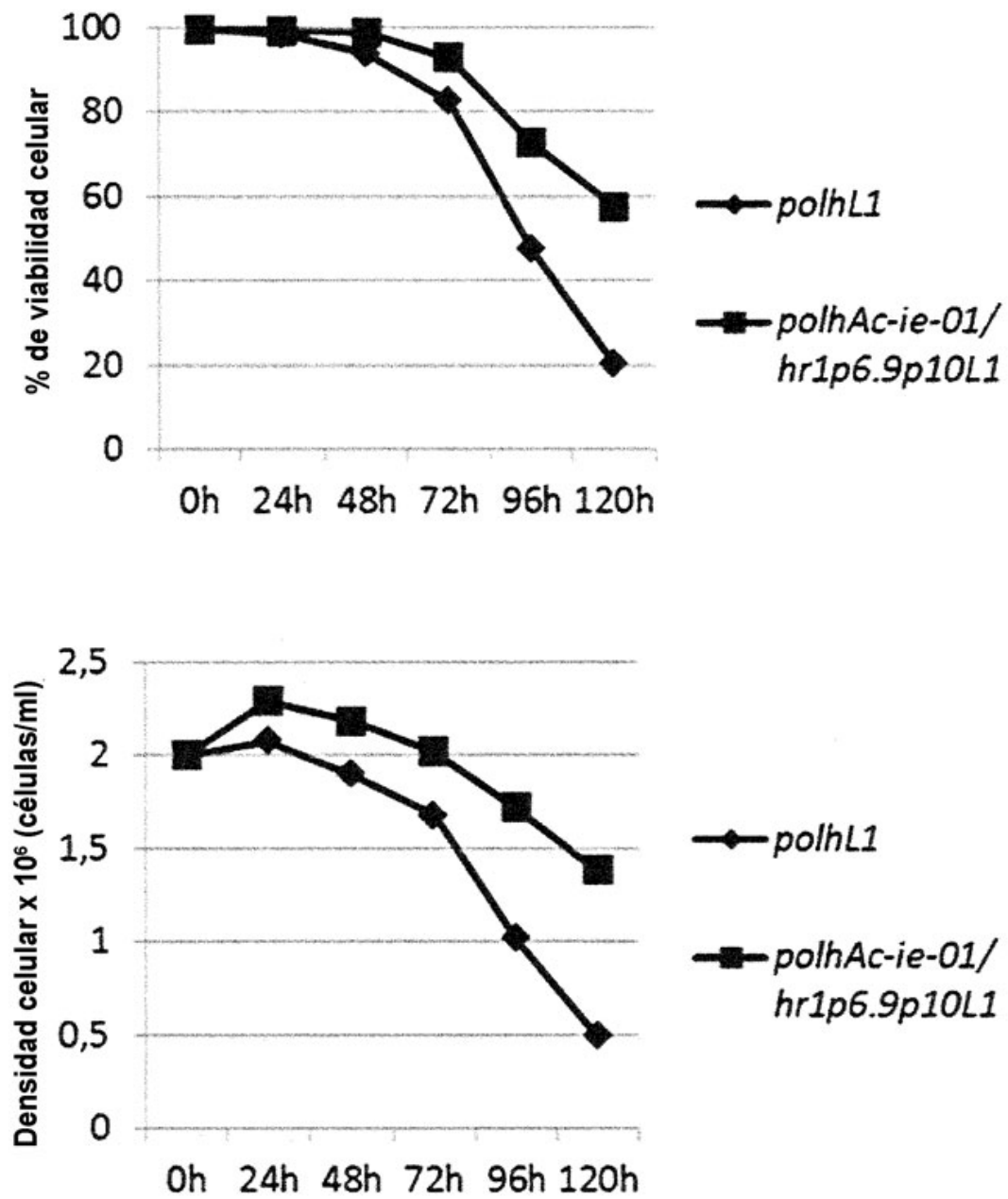


Figura 8C

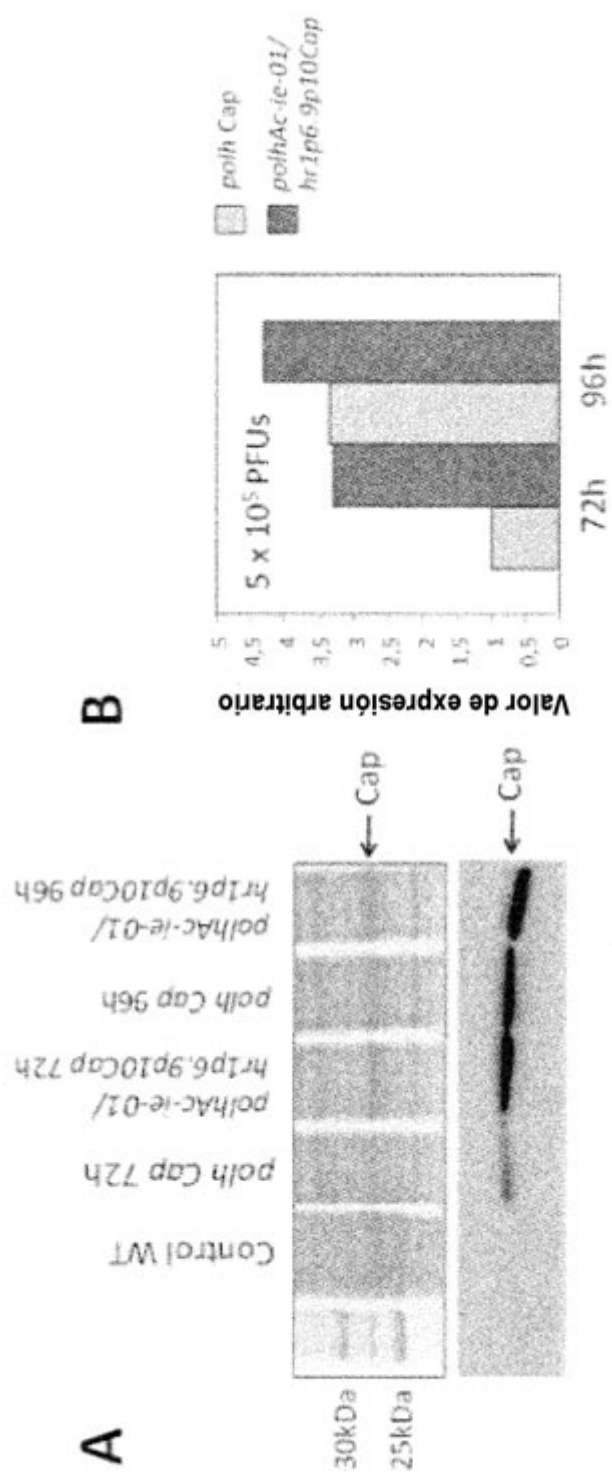


Figura 9

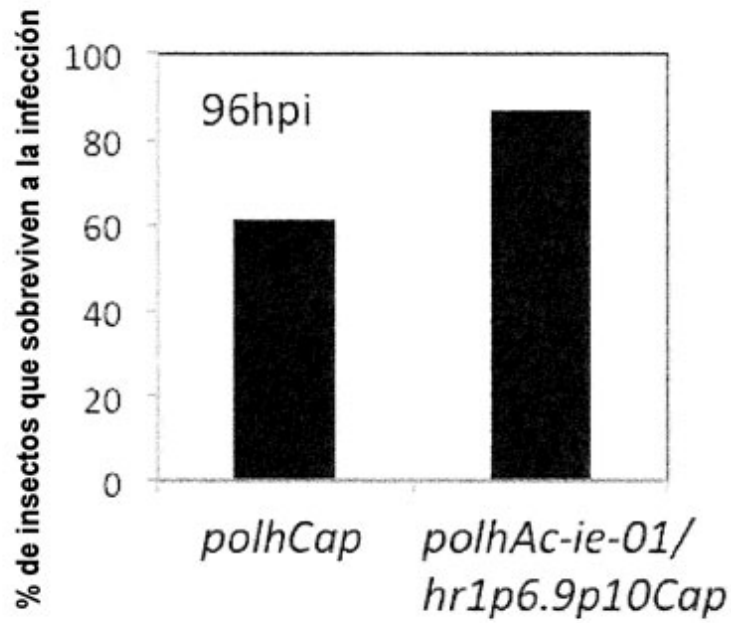


Figura 10

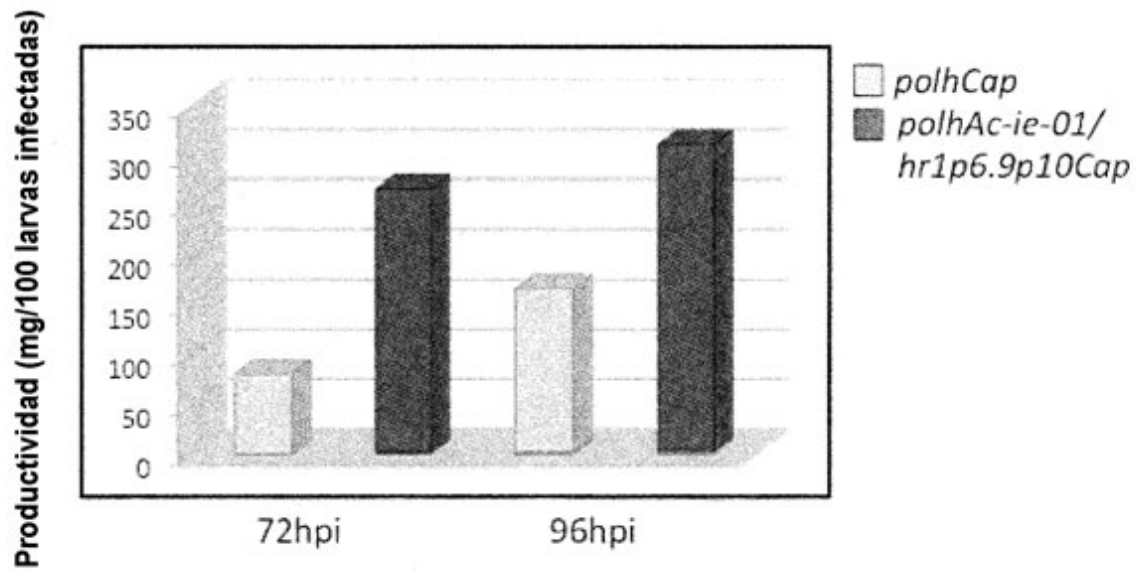


Figura 11