

## (12) Allmänt tillgänglig patentansökan

(21) Ans nr: 0502470-8

(22) Ans dat: 2005-11-09

(24) Löpdag: 2005-11-09

(41) Off dat: 2007-07-05

(43) Pub dat: 2007-10-30

(51) Int. Cl: **C12N 15/861** (2006.01)

A61K 35/76 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 14/075 (2006.01)

C12N 7/01 (2006.01)

**C12N 15/861** (2006.01)

A61K 35/76 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 14/075 (2006.01)

C12N 7/01 (2006.01)

(71) Sökande: Got-a-Gene AB, Kullavik SE

(72) Uppfinnare: Leif Lindholm Kullavik SE

(74) Ombud:

(30) Prioritetsuppgifter: ---

(54) Benämning: En ny metod att skapa adenovirus som genetiskt har styrts mot ett annat mål

(57) Sammandrag:

Adenovirusreceptorn CAR är vitt distribuerad i mänsklig vävnad och den är ofta nedreglerad i tumörceller. Det finns därför ett behov av att finna lämpliga ligander för att genetiskt styra Adenovirus (Ad) till nya receptorer. Ligander har tidigare beskrivits som måste veckas korrekt i cytoplasmans reducerande omgivning i eukaryota celler för att vara användbara för genetisk "Ad-omstyrning". Detta innebär att ligander, som är beroende av bildning av S-S bindningar för sin veckningsstabilitet, inte kan användas. Vidare, att genetiskt för in en ny ligand in i kapsiden hos Ad leder till virus med försämrad tillväxt. Detta gör framställningen av vektorer svår samt hindrar användningen av omstyrd replikationskompetent Ad.

Här presenteras en lösning på problemet med försämrad tillväxt av omstyrda Ad-vektorer som beskrivits ovan. Genetiskt omstyrda Ad skapas genom att föra in sekvensen för en tandemrepetition av en affibody-molekyl in i HI-loopen hos fiberknob som genetiskt modifierats att innehålla sekvenser för flexibla linkers mellan tandemrepetitionerna och knobsekvenserna. Som ett exempel, en tandemrepetition av Her2/neu reaktiv Affibody<sup>TM</sup>-molekyl, ZH, har förts in i HI-loopen som modifierats för att ge extra polypeptidlinkers mellan ZH och knobsekvenserna. ZH är en Affibody<sup>TM</sup>-molekyl som är specifik för den extracellulära domänen hos epidermal tillväxtfaktorreceptor 2 som överuttrycks i bland annat bröst- och äggstockscancer. Virus med en tandemrepetition av ZH i den modifierade ZH-loopen uppvisade närapå normal tillväxt och infekterade celler via Her2/neu istället för CAR.

Den nya tekniken som beskrivits i föreliggande patentansökan lämpar sig därför för konstruktion av genetiskt omstyrda adenovirus. Tekniken beskriver konstruktionen av adenovirus där sekvenserna för en ny cell-bindande ligand har förts in i HI-loopen av fiberknoben med hjälp av uppströms och nedströms linkersekvenser. Fiberknoben kan muteras så att den cellbindande kapaciteten försvinner eller kan behålla nämnda cellbindning. Förklaringen till den nya tekniken är att flexibla linkers tillåter korrekt och oberoende veckning av knobpeptidsekvenserna såväl som av de nya ligandpeptidsekvenserna. Genom att medge korrekt veckning av knobsekvenserna räknar man med att knobfunktioner som är viktiga för virusreplikation bibehålls.