



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2020128190, 01.02.2019

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
09.02.2018 CN 201810131794.3

(43) Дата публикации заявки: 09.03.2022 Бюл. № 7

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 09.09.2020(86) Заявка РСТ:
CN 2019/074384 (01.02.2019)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2019/154311 (15.08.2019)Адрес для переписки:
197101, Санкт-Петербург, а/я 128, "АРС-
ПАТЕНТ", М.В. Хмара

(71) Заявитель(и):

**ЦЗЯНСУ ХЭНЖУЙ МЕДИЦИН КО.,
ЛТД. (CN)**

(72) Автор(ы):

**ВАН, Фэйфэй (CN),
ЧЭНЬ, Лэй (CN),
ВАН, Хунвэй (CN)**(54) **КОДОН-ОПТИМИЗИРОВАННЫЙ ГЕН ПРЕДШЕСТВЕННИКА И ГЕН СИГНАЛЬНОГО
ПЕПТИДА АНАЛОГА ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНСУЛИНА**

(57) Формула изобретения

1. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая молекулу или структуру, имеющую следующую общую формулу



где PS представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сайт процессинга, а представляет собой 0 или 1;

SP представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сигнальный пептид, b представляет собой 1;

LS представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую спейсерный пептид, c представляет собой 0 или 1;

GE представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую целевой полипептид; и

P'S представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сайт процессинга, d представляет собой 0 или 1;

при этом молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая сигнальный пептид, содержит последовательность, показанную в виде SEQ ID NO: 1.

2. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая молекулу или структуру, имеющую следующую общую формулу



где PS представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сайт процессинга, а представляет собой 0 или 1;

SP представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сигнальный пептид, b представляет собой 0 или 1;

LS представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую спейсерный пептид, c представляет собой 0 или 1;

GE представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид - предшественник аналога человеческого инсулина; и

P'S представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сайт процессинга, d представляет собой 0 или 1;

при этом молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид - предшественник аналога человеческого инсулина, содержит последовательность, показанную в виде SEQ ID NO: 3.

3. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где целевой полипептид представляет собой предшественник аналога человеческого инсулина, а молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая предшественник аналога человеческого инсулина, содержит молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в виде SEQ ID NO: 4, предпочтительно, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, показанную в виде SEQ ID NO: 3.

4. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 2, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая сигнальный пептид, содержит молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую аминокислотную последовательность, показанную в виде SEQ ID NO: 2, предпочтительно содержит последовательность нуклеиновой кислоты, показанную в виде SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 12.

5. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 2-4, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая предшественник аналога человеческого инсулина, содержит замену в положениях 88-96 SEQ ID NO: 3, предпочтительно, заменена GCCGCTAAG, GCTGCCAAG, GCTGCTAAA или GCCGCCAAG.

6. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-5, где аминокислотная последовательность спейсерного пептида содержит EEGEPK (Glu-Glu-Gly-Glu-Pro-Lys), предпочтительно, молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая спейсерный пептид, содержит последовательность, показанную в виде SEQ ID NO: 5.

7. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-6, содержащая любую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 15; или состоящая из любой последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 15.

8. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-7, в которой сайт процессинга представляет собой сайт рестрикции, предпочтительно, PS представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сайт рестрикции EcoR I, и/или P'S представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сайт рестрикции Not I.

9. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, при этом, предпочтительно, указанный вектор представляет собой эукариотический экспрессионный вектор или прокариотический экспрессионный вектор.

10. Клетка-хозяин, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8 и/или вектор по п. 9, при этом, предпочтительно, клетка-хозяин представляет собой дрожжи, более предпочтительно - *Pichia Pastoris*.

11. Способ получения аналога человеческого инсулина, включающий применение молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, вектора по п. 9 и/или клетки-хозяина по п. 10.

12. Способ по п. 11, дополнительно включающий следующие стадии:
1) экспрессия предшественника аналога человеческого инсулина; и
2) получение аналога человеческого инсулина посредством ферментативного расщепления предшественника аналога человеческого инсулина, полученного на стадии 1).

13. Способ по п. 11 или 12, в котором аналог человеческого инсулина представляет собой человеческий инсулин с делецией В30, и/или аналог человеческого инсулина дополнительно заменен ацилированной группой; предпочтительно лизин в положении В29 заменен ацилированной группой; более предпочтительно, продукт после замены представляет собой лизин В29 (N^{ϵ} -(N^{α} -жирная гексадекандикислота-L-лизин- N^{ϵ} -оксобутилил)) дез(В30) человеческий инсулин.

RU 2020128190 A

RU 2020128190 A