

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201600525** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2017.12.29

(51) Int. Cl. *C12N 7/00* (2006.01)
A61K 39/21 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2016.06.08

(54) **ШТАММ ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА 1-ГО ТИПА ИВ748 СУБТИПА А
ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

(96) 2016000044 (RU) 2016.06.08

(71) Заявитель:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ "НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ВАКЦИН И
СЫВОРОТОК ИМ. И.И.
МЕЧНИКОВА" (ФГБНУ НИИВС
ИМ. И.И. МЕЧНИКОВА) (RU)**

(72) Изобретатель:
**Носик Марина Николаевна,
Кравченко Алексей Викторович,
Киселева Ирина Алексеевна, Носик
Дмитрий Николаевич, Киреев
Дмитрий Евгеньевич, Шипулин
Герман Александрович, Зверев
Виталий Васильевич, Покровский
Вадим Валентинович (RU)**

(74) Представитель:
**Прозоровская Е.В., Рождественский
С.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к области вирусологии и биотехнологии и может быть использовано для получения диагностических и экспериментальных вакцинных препаратов. Описан новый штамм вируса иммунодефицита человека ИВ748, выделенный на территории РФ от больного, не получавшего АРВ-терапию; путь инфицирования - половой (гетеросексуальный контакт). Принадлежит к варианту ВИЧ субтипа А, циркулирующему в настоящее время на большей части территории РФ. Генетический анализ нуклеотидных последовательностей гена обратной транскриптазы, гена протеазы и гена интегразы, проведенный с помощью набора реагентов "АмплиСенс HIV-Resist-Seq" показал, что данный штамм вируса относится к субтипу А и не содержит мутаций резистентности к антиретровирусным препаратам. Обладает стабильной репродуктивной активностью. Инфекционный титр составляет 6 lg ТЦД 50. Предлагается для использования в качестве физиологически приемлемого средства для эффективного и высокоточного изучения антивирусного действия химиопрепаратов нового поколения и для создания вакцины.

A1

201600525

201600525

A1

ШТАММ ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА I-ГО ТИПА ИВ748 СУБТИПА А ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Область техники

[0001] Изобретение относится к области вирусологии и биотехнологии и может быть использовано для получения диагностических и экспериментальных вакцинных препаратов

Уровень техники

[0002] Проблема ВИЧ-инфекции до сих пор остается одной из серьезных мировых проблем. Миллионы людей в мире уже инфицированы ВИЧ и каждую минуту происходит новое заражение вирусом. В нашей стране эта проблема, к сожалению, тоже актуальна. Свыше 80% ВИЧ-инфицированных составляют лица от 30 до 40 лет, то есть речь идет о нетрудоспособности огромного числа лиц трудоспособного возраста [1]. В итоге, данная проблема из разряда медицинской переходит в разряд социальной. В связи с этим, создание вакцины против вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) является актуальной проблемой. В настоящее время в ряде стран проводятся испытания вакцинных препаратов, созданных на основе изолятов ВИЧ-1, относящихся к субтипу E, доминирующего на Африканском континенте и Азии, и на основе изолятов ВИЧ субтипа B, преобладающего в Европе и Северной Америке [2, 3]. Однако для территории РФ характерен вариант ВИЧ, относящийся к субтипу A, поэтому для разработки диагностических и вакцинных препаратов, и изучения химиопрепаратов нового поколения необходимо использовать штамм ВИЧ-1 именно данного субтипа [4,5].

[0003] Задача изобретения - получение штамма вируса иммунодефицита человека, принадлежащего к субтипу A, доминирующему в настоящее время на большей части территории РФ.

Технический результат, который может быть получен при осуществлении изобретения, заключается в использовании его в качестве физиологически приемлемого средства для эффективного и высокоточного изучения антивирусного действия химиопрепаратов нового поколения и для создания вакцины.

Сущность изобретения

[0004] Авторы настоящего изобретения получили новый штамм вируса иммунодефицита человека I-го типа ИВ748 субтипа A для диагностических и вакцинных препаратов, не имеющий мутаций устойчивости к антиретровирусным

препаратам, выделенный на территории РФ от больного не получавшего АРВ-терапию и инфицированного половым путем. Заявляемый штамм представляет собой биологически чистую культуру и имеет нуклеотидную последовательность, приведенную в Приложении.

Депонирование биологического материала

[0005] Штамм вируса хранится в Государственной коллекции вирусов «Института вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» (депонент ГКВ №1199).

Условия хранения

Штамм хранится в лиофилизированном состоянии в жидком азоте (температура -196 °С) в Государственной коллекции вирусов «Института вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи».

Подробное описание изобретения

[0006] Штамм вируса относится к семейству *Retroviridae*, роду *Lentivirus*, субтип А. Выделен из лимфоцитов периферической крови ВИЧ-инфицированного, не получавшего антиретровирусную терапию. При получении штамма использованы методы сокультивации лимфоцитов больного с лимфоцитами крови здорового донора, стимулированных митогеном, а также с человеческими перевиваемыми клеточными линиями.

Репродукция.

[0007] Штамм ВИЧ-1 ИВ748 обладает высокой репродуктивной активностью и реплицируется в лимфоцитах периферической крови, лимфобластоидных клеточных культурах MT-4 и Jurkat. Репродукция вируса сопровождается характерным цитопатическим действием и синицитеобразованием. Штамм может поддерживаться длительное время при пассировании на клеточных линиях. Через 5-6 дней после инфицирования клеток вирусосодержащей культуральной жидкостью, инфицированная клеточная взвесь замораживается и после размораживания и осветления при 1000 об/мин вносится к свежим неинфицированным клеткам, в соотношении 1:10.

Инфекционный титр вируса определяли по 50% тканевой цитопатической дозе вируса на модели вышеуказанных клеточных культур в сравнении со штаммом-аналогом ВИЧ-1 LAV, который является первым изолятом ВИЧ-1, выделенным от

больного СПИД [6]. Продуктивная активность штамма составляет 6,0 lg ТЦД50 и сопоставима с инфекционным титром штамма-аналога (таблица 1).

Таблица 1.

Сравнительное исследование инфекционной активности штаммов ВИЧ-1 LAV и ИВ748 на модели клеток МТ-4 и Jurkat

| Титр, lg ТЦД 50 | Штаммы ВИЧ-1 (модель клеток МТ-4) | | Штаммы ВИЧ-1 (модель клеток Jurkat) | |
|--------------------|--------------------------------------|-------|--|-------|
| | LAV | ИВ748 | LAV | ИВ748 |
| | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 |

Антигенные свойства.

[0008] ВИЧ-1 относится к семейству Retroviridae, род Lentivirus. Вирусы этой подгруппы являются оболочечными РНК-содержащими вирусами с размером частиц около 100-150 нм. В составе частиц обнаруживают не менее 6 основных структурных антигенов, обладающих иммуногенными свойствами, которые могут быть выявлены в инфицированных клетках с помощью различных иммунологических и вирусологических методов.

Иммунофлуоресценция.

Исследование методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием сыворотки больного СПИД, содержащей антитела к ВИЧ-1, показало наличие антигенов ВИЧ-1 в 45-50% инфицированных клеток.

Иммуноблот.

Исследование в иммуноблоте показало, что вирус обладает антигенными детерминантами, характерными для ВИЧ-1: 120/160, 65, 55, 41, 31, 24, 17 кД (таблица 2).

Субтипирование. Анализ нуклеотидных последовательностей гена обратной транскриптазы в области кодонов 20-270, гена протеазы в области кодонов 1-93 и гена интегразы в области кодонов 1-288, проведенный с помощью набора реагентов "АмплиСенс HIV-Resist-Seq" (регистрационное удостоверение № ФСР 2008/02414) показал, что данный штамм вируса относится к субтипу А и не содержит мутаций резистентности к антиретровирусным препаратам (таблицы 3, 4, 5).

Таблица 3.

Чувствительность штамма ИВ748 к антиретровирусным препаратам класса НИОТ и ННИОТ

| Химиопрепараты | | | | | |
|-----------------------|-------------------|-----------------|------------------------|-------------------|-----------------|
| НИОТ | | | ННИОТ | | |
| <i>(нуклеозидные</i> | <i>ингибиторы</i> | <i>обратной</i> | <i>(ненуклеозидные</i> | <i>ингибиторы</i> | <i>обратной</i> |
| <i>транскриптазы)</i> | | | <i>транскриптазы)</i> | | |
| Ламивудин | | | Эфавиринец | | |
| Абакавир | | | Этравирин | | |
| Зидовудин | | | Невирарпин | | |
| Диданозин | | | Рилпивирин | | |
| Эмтрицитабин | | | | | |
| Ставудин | | | | | |
| Тенофовир | | | | | |

Таблица 4.

Чувствительность штамма ИВ748 к антиретровирусным препаратам, ингибирующим протеазу ВИЧ-1

| Химиопрепараты, ИП (ингибиторы протеазы) |
|--|
| Атаназавир |
| Дарунавир |
| Фозампренавир |
| Индинавир |
| Лопинавир |
| Нелфинавир |
| Саквинавир |
| Типранавир |

Таблица 5.

Чувствительность штамма ИВ748 к антиретровирусным препаратам, ингибирующим интегразу ВИЧ-1

| |
|--|
| Химиопрепараты, ИИ (ингибиторы интегразы) |
| Долутегравир |
| Элвитегравир |
| Ралтегравир |

[0009] Возможность использования изобретения иллюстрируется примерами, которые не ограничивают объем и сущность притязаний, связанных с ними.

Пример 1. Сравнительное исследование инфекционной активности штаммов ВИЧ-1 LAV и ИВ748 по цитопатическому действию.

Исследование инфекционной активности штаммов ВИЧ проводили на модели лимфобластоидных клеток MT-4 и Jurkat в пластиковой 24-луночной панели (Costar, США). Клетки инфицировали вирусом в дозе 0,01 инфекционных единиц на клетку. Далее, инкубировали культуры клеток при 37C° в течение 1 часа и дважды отмывали. После этого к культуре клеток добавляли питательную среду RPMI-1640 с 10% сыворотки эмбрионов коров (производства Sigma) и 100 мкг/мл гентамицина (конечная концентрация клеток 400 000 клеток/мл). Учет результатов противовирусной активности производили по жизнеспособности клеток, путем окрашивания клеток красителем трипановым синим на 6-7 сутки. За титр вируса принимали величину обратную его максимальному разведению, вызывающему как минимум двухкратное превышение показателя гибели клеток по сравнению с контролем. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Сравнительный анализ показал, что инфекционные титры штамма ИВ748 сопоставим с инфекционным титром штамма-аналога LAV, что свидетельствует об их сходной активности. Данный инфекционный титр позволяет успешно инфицировать лимфобластоидные клеточные культуры, с целью дальнейшей наработки инфекционного материала.

Пример 2. Диагностика антител к ВИЧ-1 методом иммуноблота.

[00010] Материал для исследования антител к ВИЧ-1 представлен 8 сыворотками, полученными от ВИЧ-инфицированных лиц и содержащих анти-ВИЧ антитела. Сыворотки были предварительно охарактеризованы в коммерческой тест-системе фирмы «Биорад» (США). В качестве антигена использован штамм ИВ748 и штамм –аналог LAV. Выявление антител к ВИЧ-1 проводили с помощью нитроцеллюлозных стрипованных мембран (стрип), с нанесенными на них антигенами ВИЧ-1, фирмы «Биорад» (США). Готовую стрипованную мембрану предварительно замачивали на 5 мин в фосфатно-солевом буфере с твином (ФСБ-Т). Сыворотку крови в количестве 20 мкл разводили в 1 мл ФСБ-Т, содержащего 0,5% БСА (бычий сывороточный альбумин) и вносили в лунку со стрипом. После инкубации в течение 1 час при комнатной температуре и отмывки ФСБ-Т, вносили конъюгат, разведенный в 1 мл ФСБ-Т. Далее снова проводили инкубацию в течение 1 час при комнатной температуре и после отмывки ФСБ-Т вносили 1 мл раствора тетраметилбензидина (ТМБ) в цитратно-фосфатном буфере (ЦФБ). Затем инкубировали в темноте до появления четких полос в контрольном стрипе. Реакцию останавливали 1 н серной кислотой. После промывки стрипа дистиллированной водой, его высушивали при комнатной температуре и визуально проводили учет результатов.

Результаты исследований представлены в таблице 2. В результате проведенных исследований установлено, что антиген штамма ИВ748 позволяет выявлять антитела ко всем основным структурным белкам ВИЧ-1 и, следовательно, может быть использован для изучения сероконверсии лиц, инфицированных ВИЧ-1 а также для изучения противовирусного действия химиопрепаратов и создания вакцины против ВИЧ.

Таблица 2.

Исследование штамма ИВ748 методом иммуноблота

| Вирусный антиген | Выявленные антитела | | | | | | | | |
|------------------|---------------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|
| | Контроль (LAV) | 160 | 120 | 65 | 55 | 53 | 41 | 31 | 24 |
| ИВ748 | 160 | 120 | 65 | 55 | 53 | 41 | 31 | 24 | 17 |

Пример 3. Сравнительный анализ инфекционной активности штаммов ВИЧ-1 LAV и ИВ748 по уровню антигена вируса (p24).

[0011] Определение уровня вирусного антигена в вирусосодержащей жидкости проводили с помощью иммуноферментного анализа, с использованием коммерческого иммуноферментного набора фирмы Биорад (США) на 96-луночных панелях. В лунки, в которые предварительно был внесены исследуемые образцы, добавляли конъюгат, содержащий биотилинированные поликлональные антитела к p24 ВИЧ-1. После инкубации в течение 1 часа при 37⁰С, панель отмывали трис-солевым буфером и вносили стрептавидин-пероксидазный конъюгат. Проводили инкубацию в течение 30 мин при комнатной температуре, отмывали панель трис-солевым буфером и затем для визуализации реакции добавляли тетраметилбензидин (ТМБ). После инкубации в течение 30 минут в темноте, при комнатной температуре в лунки для остановки реакции вносили 1 н серную кислоту. Результаты учитывали с помощью фотометра “Multiscan” при длине волны 630 нм. За положительный контроль принимали не менее, чем 3-кратное превышение оптической плотности по сравнению с таковым показателем неинфицированной клеточной линии.

[0012] Результаты исследований представлены в Таблице 6. В результате проведенных исследований установлено, что штамм ИВ748 не уступает по уровню выработки антигена ВИЧ-1, штамму-аналогу LAV и обладает высокой репродуктивной активностью, что позволяет успешно инфицировать им лимфобластоидные клеточные культуры, с целью дальнейшей наработки инфекционного материала.

Таблица 6.

Сравнительный анализ инфекционной активности штаммов ВИЧ-1 LAV и ИВ748 по уровню антигена вируса (p24).

| Контроль клеток | Штаммы ВИЧ-1 | |
|--------------------|----------------|--------|
| | Контроль (LAV) | ИВ748 |
| 0,159* | 2,961 | 2, 955 |

* оптическая плотность

Источники информации

1. Постановление от 13.02.2012 №6 «О неотложных мерах по противодействию распространения ВИЧ-инфекции в Российской Федерации».

2. Spira S., Wainberg M.A., Loemba H. et al. Impact of clade diversity on HIV-1 virulence, antiretroviral drug sensitivity and drug resistance // *J. Antimicrob. Chem.* – 2003. –V.51.- P. 229-240.
3. Kathy Stover. "In Thailand Clinical Study, HIV Vaccine Regimen Demonstrates Modest Preventive Effect." *Medical News Today*. MediLexicon, Intl., 25 Sep. 2009. Web.
22 Jun. 2012. <http://www.medicalnewstoday.com/releases/165277.php>
4. Bobkov A.F., Kazennova E.V., Selimova L.M. et al. Temporal trends in the HIV-1 epidemic in Russia: predominance of subtype A // *J. Med. Virol.* – 2004. – V.74. – P.191-196.
5. Nosik M., Ryzhov K., Kravtchenko A. et al. Genotypic Analyses of HIV in antiretroviral drug-naïve patients from Moscow and Moscow Region, Russia// 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, 17-20 July 2011, Rome, Italy, Abs.CDA002
6. Barre-Sinoussi F., Mugeyre M., Dauguet C. Isolation of a T-lymphotropic retroviruses from a patient at risk for AIDS // *Science*.-1983.-Vol.220.-P.868-871

**ДАнные, ОТНОсяЩИЕСя К ДЕПОНИРОВАННОМУ МИКРООРГАНИЗМУ
ИЛИ ДРУГОМУ БИОЛОГИЧЕСКОМУ МАТЕРИАЛУ**

Дата депонирования: __12 ноября 2012 г.

Номер доступа: депонент ГКВ №1199

Название и адрес депозитного учреждения:

Государственная коллекция вирусов «Института вирусологии им. Д.И.

Ивановского», ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи».

Россия, 123098, МОСКВА ГОРОД, ГАМАЛЕИ УЛИЦА, 16

SEQUENCE LISTING

<110> ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова

<120> ШТАММ ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА I-ГО ТИПА ИВ748 СУБТИПА А ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ

<130> 1

<160> 3

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<400> 1

000

<210> 2

<211> 1115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Cys | Ala | Gly | Cys | Ala | Gly | Ala | Ala | Gly | Thr | Cys | Thr | Thr | Thr | Gly | Gly |
| 1 | | | 5 | | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| Gly | Ala | Thr | Gly | Ala | Gly | Ala | Gly | Ala | Ala | Gly | Ala | Gly | Ala | Cys | Gly |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Ala | Cys | Cys | Cys | Cys | Cys | Thr | Cys | Cys | Cys | Thr | Gly | Ala | Gly | Ala | Cys |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Ala | Gly | Gly | Ala | Ala | Cys | Ala | Gly | Ala | Ala | Gly | Gly | Ala | Cys | Ala | Gly |
| | | 50 | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gly | Gly | Ala | Ala | Cys | Ala | Ala | Cys | Gly | Thr | Cys | Cys | Thr | Cys | Cys | Thr |
| 65 | | | | 70 | | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Thr | Cys | Ala | Ala | Thr | Thr | Thr | Cys | Cys | Cys | Thr | Cys | Ala | Ala | Ala | Thr |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Cys | Ala | Cys | Thr | Cys | Thr | Thr | Thr | Gly | Gly | Cys | Ala | Ala | Cys | Gly | Ala |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Cys | Cys | Cys | Cys | Thr | Thr | Gly | Thr | Cys | Ala | Cys | Ala | Ala | Thr | Ala | Ala |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Ala | Ala | Ala | Thr | Ala | Gly | Gly | Ala | Gly | Gly | Ala | Cys | Ala | Gly | Cys | Thr |
| | | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | |
| Ala | Ala | Ala | Ala | Gly | Ala | Ala | Gly | Cys | Thr | Cys | Thr | Ala | Thr | Thr | Ala |
| 145 | | | | 150 | | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Gly | Ala | Thr | Ala | Cys | Ala | Gly | Gly | Ala | Gly | Cys | Ala | Gly | Ala | Thr | Gly |
| | | | | 165 | | | | | | 170 | | | | 175 | |
| Ala | Thr | Ala | Cys | Ala | Gly | Thr | Ala | Thr | Thr | Ala | Gly | Ala | Ala | Gly | Ala |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | | 190 | |
| Cys | Ala | Thr | Ala | Ala | Ala | Thr | Thr | Thr | Gly | Cys | Cys | Ala | Gly | Gly | Ala |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Ala | Ala | Ala | Thr | Gly | Gly | Ala | Ala | Ala | Cys | Cys | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala |
| | | 210 | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Thr | Gly | Ala | Thr | Ala | Gly | Gly | Gly | Gly | Gly | Ala | Ala | Thr | Thr | Gly | Gly |
| 225 | | | | 230 | | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Ala | Gly | Gly | Thr | Thr | Thr | Thr | Ala | Thr | Cys | Ala | Ala | Ala | Gly | Thr | Ala |
| | | | 245 | | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Ala | Gly | Ala | Cys | Ala | Gly | Thr | Ala | Thr | Gly | Ala | Thr | Cys | Ala | Gly | Ala |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Thr | Ala | Cys | Cys | Thr | Ala | Thr | Ala | Gly | Ala | Ala | Ala | Thr | Thr | Thr | Gly |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Thr | Gly | Gly | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala | Gly | Gly | Cys | Thr | Ala | Thr | Ala |
| | | 290 | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Gly | Gly | Thr | Ala | Cys | Gly | Gly | Thr | Ala | Thr | Thr | Ala | Ala | Thr | Ala | Gly |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |

Gly Gly Cys Cys Thr Ala Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala
 325 330 335
 Cys Ala Thr Ala Ala Thr Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ala Thr
 340 345 350
 Ala Thr Gly Thr Thr Gly Ala Cys Ala Ala Ala Gly Gly Thr Thr Ala
 355 360 365
 Ala Ala Cys Ala Ala Thr Gly Gly Cys Cys Ala Thr Thr Gly Ala Cys
 370 375 380
 Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Thr Ala Ala Ala Ala
 385 390 395 400
 Gly Cys Ala Thr Thr Ala Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Thr Thr Thr
 405 410 415
 Gly Thr Ala Ala Gly Gly Ala Gly Ala Thr Gly Gly Ala Ala Ala Ala
 420 425 430
 Gly Gly Ala Ala Gly Gly Ala Ala Ala Ala Ala Thr Thr Thr Cys Ala
 435 440 445
 Ala Ala Ala Ala Thr Thr Gly Gly Gly Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala
 450 455 460
 Ala Thr Cys Cys Ala Thr Ala Cys Ala Ala Thr Ala Cys Thr Cys Cys
 465 470 475 480
 Ala Gly Thr Ala Thr Thr Thr Gly Thr Thr Ala Thr Ala Ala Ala Gly
 485 490 495
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Cys Ala Gly Cys Ala Cys Thr Ala
 500 505 510
 Ala Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Thr Thr Ala Gly Thr
 515 520 525
 Ala Gly Ala Thr Thr Thr Cys Ala Gly Gly Gly Ala Gly Cys Thr Cys
 530 535 540
 Ala Ala Thr Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Thr Cys Ala Gly Gly
 545 550 555 560
 Ala Cys Thr Thr Thr Thr Gly Gly Gly Ala Ala Arg Thr Thr Cys Ala
 565 570 575
 Ala Thr Thr Ala Gly Gly Ala Ala Thr Ala Cys Cys Cys Cys Ala Thr
 580 585 590
 Cys Cys Ala Gly Cys Gly Gly Gly Thr Thr Thr Ala Ala Ala Ala Ala
 595 600 605
 Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Ala Cys
 610 615 620
 Ala Gly Thr Gly Cys Thr Ala Gly Ala Thr Gly Thr Gly Gly Gly Gly
 625 630 635 640
 Gly Ala Thr Gly Cys Ala Thr Ala Thr Thr Thr Thr Cys Ala Gly
 645 650 655
 Thr Thr Cys Cys Thr Thr Thr Ala Gly Ala Thr Gly Ala Ala Ala Ala
 660 665 670
 Cys Thr Thr Cys Ala Gly Arg Ala Ala Gly Thr Ala Thr Ala Cys Thr
 675 680 685
 Gly Cys Ala Thr Thr Cys Ala Cys Thr Ala Thr Ala Cys Cys Ala Ala
 690 695 700
 Gly Thr Ala Thr Ala Ala Ala Cys Ala Ala Thr Gly Ala Gly Ala Cys
 705 710 715 720
 Ala Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Thr Cys Ala Gly Ala Thr Ala Thr
 725 730 735
 Cys Ala Gly Thr Ala Cys Ala Ala Thr Gly Thr Ala Cys Thr Ala Cys
 740 745 750
 Cys Ala Cys Ala Gly Gly Gly Ala Thr Gly Gly Ala Ala Gly Gly
 755 760 765
 Ala Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Ala Thr Ala Thr Thr Cys
 770 775 780
 Cys Ala Gly Ala Gly Thr Ala Gly Cys Ala Thr Gly Ala Cys Ala Ala
 785 790 795 800
 Ala Ala Ala Thr Cys Thr Thr Ala Gly Ala Gly Cys Cys Ala Thr Thr
 805 810 815
 Thr Ala Gly Arg Tyr Thr Ala Ala Ala Ala Ala Tyr Cys Cys Ala
 820 825 830

Gly Ala Ala Ala Thr Ala Gly Thr Thr Ala Thr Cys Thr Ala Thr Cys
 835 840 845
 Ala Ala Thr Ala Cys Ala Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Cys Thr Thr
 850 855 860
 Gly Thr Ala Thr Gly Thr Ala Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr
 865 870 875 880
 Thr Thr Ala Gly Ala Ala Ala Thr Ala Gly Gly Cys Ala Ala Cys
 885 890 895
 Ala Thr Ala Gly Ala Ala Cys Ala Ala Ala Ala Thr Ala Gly Ala
 900 905 910
 Gly Gly Ala Gly Thr Thr Ala Ala Gly Ala Gly Cys Thr Cys Ala Cys
 915 920 925
 Cys Thr Ala Thr Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly Gly Ala Thr
 930 935 940
 Thr Thr Ala Cys Thr Ala Cys Cys Cys Cys Ala Gly Ala Cys Ala Ala
 945 950 955 960
 Ala Ala Ala Gly Cys Ala Thr Cys Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ala
 965 970 975
 Cys Cys Thr Cys Cys Trp Thr Thr Thr Cys Thr Thr Thr Gly Gly Ala
 980 985 990
 Thr Gly Gly Gly Ala Thr Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Cys Cys Ala
 995 1000 1005
 Thr Cys Cys Thr Gly Ala Cys Ala Ala Ala Thr Gly Gly Ala Cys Ala
 1010 1015 1020
 Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Thr Ala Ala Thr Gly Cys
 1025 1030 1035 1040
 Thr Ala Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Ala Ala Gly Ala Cys Ala Gly
 1045 1050 1055
 Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala Thr Gly Ala Thr
 1060 1065 1070
 Ala Thr Ala Cys Ala Gly Ala Ala Ala Thr Thr Ala Gly Thr Gly Gly
 1075 1080 1085
 Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Ala Ala Ala Thr Thr Gly Gly Gly Cys
 1090 1095 1100
 Ala Ala Gly Thr Cys Ala Ala Ala Thr Thr Thr
 1105 1110 1115

<210> 3

<211> 936

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Ala Cys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Ala
 20 25 30
 Ala Gly Thr Ala Gly Ala Thr Ala Ala Ala Cys Thr Ala Gly Thr Cys
 35 40 45
 Ala Gly Thr Cys Ala Thr Gly Gly Ala Ala Thr Cys Ala Gly Ala Ala
 50 55 60
 Gly Gly Gly Thr Gly Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr Ala Gly Ala
 65 70 75 80
 Cys Gly Gly Gly Ala Thr Ala Gly Ala Thr Ala Ala Gly Gly Cys Thr
 85 90 95
 Cys Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Thr Gly Ala Ala Ala
 100 105 110
 Ala Ala Thr Ala Thr Cys Ala Cys Ala Gly Cys Ala Ala Thr Thr Gly
 115 120 125
 Gly Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Thr Gly Gly Cys Thr Ala Gly Thr
 130 135 140
 Gly Ala Thr Thr Thr Thr Ala Ala Thr Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys
 145 150 155 160
 Cys Thr Ala Thr Ala Gly Thr Ala Gly Cys Ala Ala Ala Gly Gly Ala

165 170 175
Ala Ala Thr Ala Gly Thr Ala Gly Cys Cys Ala Gly Cys Thr Gly Thr
180 185 190
Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Gly Thr Cys Ala Ala Thr Thr Ala Ala
195 200 205
Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ala Ala Gly Cys Thr Ala Thr Gly Cys Ala
210 215 220
Thr Gly Gly Ala Cys Ala Gly Gly Thr Ala Gly Ala Cys Thr Gly Thr
225 230 235 240
Ala Gly Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Ala Thr Ala Thr Gly Gly Cys
245 250 255
Ala Ala Thr Thr Ala Gly Ala Thr Thr Gly Cys Ala Cys Ala Cys Ala
260 265 270
Thr Cys Thr Ala Gly Ala Ala Gly Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Ala
275 280 285
Ala Thr Cys Ala Thr Ala Gly Thr Ala Gly Cys Ala Gly Thr Tyr Cys
290 295 300
Ala Thr Gly Thr Ala Gly Cys Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Thr Ala
305 310 315 320
Thr Ala Thr Ala Gly Ala Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Thr Thr
325 330 335
Ala Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala Ala Cys Ala Gly
340 345 350
Gly Ala Cys Ala Gly Gly Ala Arg Ala Cys Ala Gly Cys Ala Thr Ala
355 360 365
Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Thr Ala Ala Ala Ala Thr Thr Ala
370 375 380
Gly Cys Ala Gly Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Gly Cys Cys Ala Gly
385 390 395 400
Thr Ala Ala Ala Ala Gly Thr Ala Gly Thr Ala Cys Ala Cys Ala Cys
405 410 415
Ala Gly Ala Thr Ala Ala Thr Gly Gly Cys Cys Cys Cys Ala Ala Thr
420 425 430
Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala Gly Cys Ala Met Thr Gly Cys Ala Gly
435 440 445
Thr Thr Ala Ala Gly Gly Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Thr Thr Gly
450 455 460
Gly Thr Gly Gly Gly Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr Cys Cys Ala Ala
465 470 475 480
Cys Ala Gly Gly Ala Ala Thr Thr Thr Gly Gly Ala Thr Thr Cys
485 490 495
Cys Cys Thr Ala Cys Ala Ala Thr Cys Cys Cys Cys Ala Ala Ala Gly
500 505 510
Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala Gly Thr Ala Gly Thr Gly Gly Ala Gly
515 520 525
Thr Cys Thr Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Ala Gly Gly Ala Ala Thr
530 535 540
Thr Ala Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Thr Ala Gly Gly
545 550 555 560
Gly Cys Ala Gly Gly Thr Ala Ala Gly Ala Gly Ala Cys Cys Ala Ala
565 570 575
Gly Cys Thr Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Thr Thr Ala Ala Gly Ala
580 585 590
Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Gly Cys Ala Ala Ala Thr Gly Gly Cys
595 600 605
Ala Gly Thr Ala Thr Thr Cys Ala Thr Thr Cys Ala Cys Ala Ala Thr
610 615 620
Thr Thr Thr Ala Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Gly Gly Gly
625 630 635 640
Gly Gly Ala Thr Thr Gly Gly Gly Gly Gly Gly Thr Ala Cys Ala Gly
645 650 655
Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ala Thr Ala
660 665 670
Ala Thr Ala Gly Ala Cys Ala Thr Ala Ala Thr Ala Gly Cys Ala Ala

Формула изобретения

1. Штамм вируса иммунодефицита человека I –го типа ИВ748 семейства *Retroviridae*, род *Lentivirus*, субтипа А для диагностических и вакцинных препаратов, не имеющий мутаций устойчивости к антиретровирусным препаратам, выделенный на территории РФ от больного не получавшего АРВ-терапию и инфицированного половым путем, штамм вируса имеет нуклеотидную последовательность, приведенную в приложении, и депонирован в Государственную коллекцию вирусов «Института вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» (депонент ГКВ №1199) и хранится в лиофилизированном состоянии в жидком азоте, при температуре – 196 °С.
2. Штамм представляет собой биологически чистую культуру: не контаминирован бактериальной микрофлорой, грибами, вирусами-контаминантами.

ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ
ПОИСКЕ(статья 15(3) ЕАПК и правило 42
Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

201600525

| | | | |
|---|--|---|----------------------|
| Дата подачи: 08 июня 2016 (08.06.2016) | | Дата испрашиваемого приоритета: | |
| Название изобретения: Штамм вируса иммунодефицита человека 1-типа ИВ748 субтипа А для диагностических и вакцинных препаратов | | | |
| Заявитель: ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК ИМ. И.И.МЕЧНИКОВА" (ФГБНУ НИИВС ИМ. И.И.МЕЧНИКОВА) | | | |
| <input type="checkbox"/> Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа) | | | |
| <input type="checkbox"/> Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа) | | | |
| А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ: | | C12N 7/00 (2006.01) A61K 39/21 (2006.01) | |
| Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК | | | |
| Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА: | | | |
| Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК) C12N 7/00, A61K 39/21 | | | |
| Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска: | | | |
| В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ | | | |
| Категория* | Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей | | Относится к пункту № |
| A | SU 1703686 A1 (БЕЛОРУССКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ) 07.01.1992 | | 1-2 |
| A | SU 1768637 A1 (ИНСТИТУТ ВИРУСОЛОГИИ ИМ. Д. И. ИВАНОВСКОГО и др.) 15.10.1992 | | 1-2 |
| A | RU 2046138 C1 (ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ "ВЕКТОР") 20.10.1995 | | 1-2 |
| A | ABECASIS Ana B et al. HIV-1 subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. Retrovirology 2013, 10:7, pp. 1-13 | | 1-2 |
| <input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы В | | <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении | |
| * Особые категории ссылочных документов: "А" документ, определяющий общий уровень техники "Е" более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее "О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д. "Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета "D" документ, приведенный в евразийской заявке | | "I" более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения "X" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности "Y" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории "&" документ, являющийся патентом-аналогом "L" документ, приведенный в других целях | |
| Дата действительного завершения патентного поиска: | | 11 мая 2017 (11.05.2017) | |
| Наименование и адрес Международного поискового органа: Федеральный институт промышленной собственности РФ, 125993, Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб., д. 30-1. Факс: (499) 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА | | Уполномоченное лицо:  Т. Ф. Владимирова Телефон № (499) 240-25-91 | |