



MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

OBSERVATÓRIO DE TECNOLOGIAS ASSOCIADAS À COVID-19

VACINAS BASEADAS EM DNA PARA PREVENÇÃO DA COVID-19: Mecanismo de ação, ensaios clínicos e pedidos de patentes.

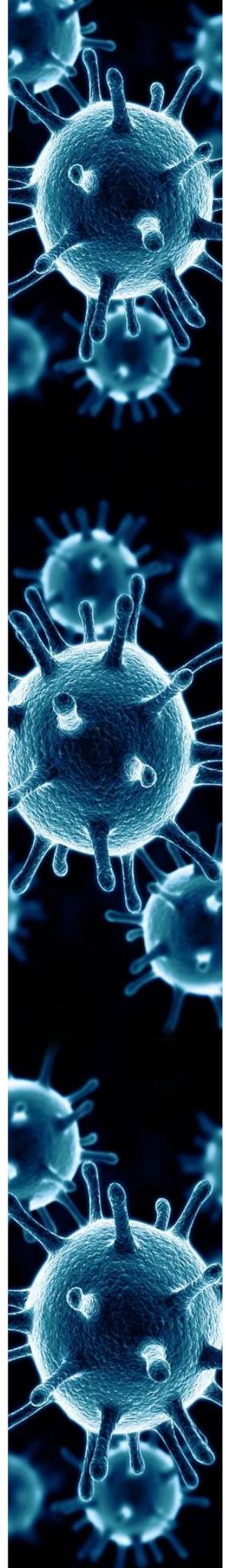
Autora: Leticia Galeazzi Winkler Ferraz

Colaboradores: Cristina d'Urso de Souza Mendes
Irene von der Weid

Nota de Copyright: Autorizada a reprodução desde que seja citada a fonte

Equipe Observatório COVID-19

Alexandre Lopes Lourenço
Cristina d'Urso de Souza Mendes
Irene von der Weid
Leticia Galeazzi Ferraz
Núbia Gabriela Benício Chedid
Tatiana Carestiato



VACINAS BASEADAS EM DNA PARA PREVENÇÃO DA COVID-19: Mecanismo de ação, ensaios clínicos e pedidos de patentes.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de vacinas para doenças infecciosas é desafiador e equipes multiprofissionais em todo o mundo estão empenhadas na busca por uma vacina. Assim que a sequência genômica de coronavírus que causa Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2) foi disponibilizada no *Chinese Medical Journal* [1] onde se viu que a composição genômica era semelhante, mas distinta do SARS-CoV e do coronavírus que causa Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) os laboratórios farmacêuticos, institutos de pesquisa e laboratórios de biotecnologia iniciaram os estudos para o desenvolvimento de uma vacina [1].

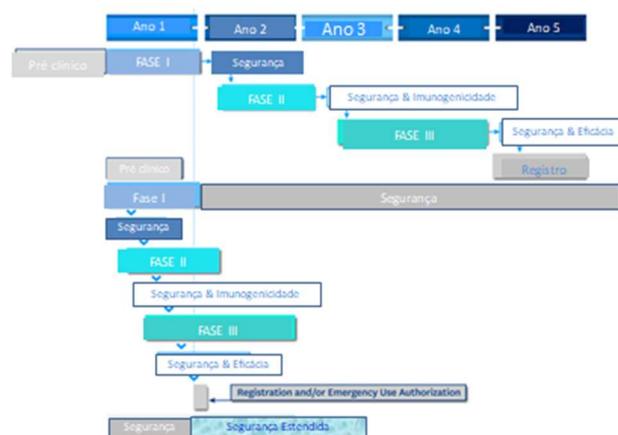
No entanto, é importante mencionar que, embora haja grandes semelhanças entre os epítomos imunogênicos dos SARS-CoVs, as vacinas para coronavírus causador da COVID-19 não são iguais àquelas propostas contra outros coronavírus, mas algumas etapas podem ser aproveitadas daquelas que vinham sendo estudadas para SARS e/ou MERS.

Normalmente, esse desenvolvimento levaria pelo menos 5 a 10 anos e custaria cerca de US\$ 500 milhões a US\$ 1,5 bilhão com uma alta taxa de insucesso: 93% das vacinas candidatas desistem entre o laboratório e o licenciamento [2], [3]. O progresso de uma vacina em um ciclo de desenvolvimento de 5 anos, por exemplo, é mostrado esquematicamente na Figura 1.

Desde a descoberta do antígeno até os testes pré-clínicos em animais, o desenvolvimento da vacina pode levar de meses a anos para ser otimizado. Os candidatos são então submetidos para testes em humanos e divididos nas Fases I – IV, no entanto a

fase IV a vacina já está disponibilizada para a população e monitoramento se dá através dos anos [4]. Embora representado sequencialmente, o desenvolvimento é interativo e recursivo, pois as empresas desejam garantir que os candidatos que alcançam os grandes e caros testes de eficácia de Fase III tenham seus riscos reduzidos e tenham probabilidade de sucesso.

Figura 1: Esquema dos cronogramas hipotéticos de desenvolvimento de vacina.



Fonte: Adaptado do Jerome H. Kim(2020)[4].

A fase onde a vacina experimental é submetida aos estudos clínicos é a mais delicada, pois não há tratamentos alternativos. Os pacientes testados estão saudáveis, e principalmente não há voluntários no principal eixo de aplicação das vacinas, as crianças. Portanto, esta fase é longa e com normas mais rígidas para aprovação dos protocolos em relação à segurança e ao benefício dos produtos [5].

Os ensaios clínicos são divididos em quatro fases. A fase I avalia a segurança, na qual é necessário um número pequeno de voluntários saudáveis do sexo masculino (geralmente, menos de 100 voluntários). A fase II avalia a imunogenicidade em um número maior de voluntários (geralmente entre 200 e 500). Esta fase pode incluir estudos de dose-resposta e vias de administração. A fase III avalia a

eficácia, é o ensaio clínico propriamente dito, obrigatoriamente randomizado, duplo-cego e controlado com placebo, para verificar se o produto cumpre o que propõe. O número de voluntários é maior (3000 a 4000 voluntários), são estudos multicêntricos e verifica a taxa de incidência de infecção pelo vírus no grupo teste, antes e depois da aplicação da vacina [2].

Porém, a escala e severidade da pandemia atual fez com que as agências regulatórias fossem mais ágeis nas avaliações, como também, atraiu mais de 150 empresas farmacêuticas, pequenas empresas de biotecnologia e universidades além de *spinoffs* de empresas para desenvolver uma vacina contra a SARS-CoV-2 [6], [7].

As tecnologias das candidatas à vacina para a COVID-19 que estão mais avançadas são: vetores virais (replicantes e não replicantes; ácidos nucleicos (DNA e RNA); vírus (atenuados e inativados); e vacinas à base de proteínas (subunidades proteicas ou partículas semelhantes ao vírus) [8], [9].

No entanto, as vacinas relacionadas aos ácidos nucleicos vêm sendo consideradas como promissoras alternativas às vacinas com vírus vivos e/ou inativados (técnica tradicional de desenvolvimento de vacinas) para prevenção contra SARS-CoV-2 [8].

Assim, o INPI, no âmbito do Observatório de Tecnologias relacionadas à COVID-19 pretende apresentar estudos sobre as vacinas em estudo clínico mais avançados: o presente estudo, sobre vacinas de DNA, os demais pretendem abordar as vacinas baseadas em outras metodologias como vacinas de RNA, vacinas de vetores virais e de vírus atenuados e com subunidades proteicas do vírus.

2.OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é fornecer um panorama atual dos conhecimentos relacionados às vacinas de DNA em estágio clínico mais avançado até

o momento para prevenção de SARS-CoV-2, com base nos documentos de patentes relacionados a estas tecnologias. A saber, as vacinas que serão analisadas neste estudo são: INO-4800; GX-19; ZyCoV-D (nCov Vaccine); e AGO301.

Cabe ressaltar, que por serem tecnologias muito recentes muitos dos pedidos de patentes específicos das vacinas estudadas ainda não foram publicados e a informação sobre as vacinas é principalmente proveniente das instituições que as desenvolvem. Portanto o presente estudo visa demonstrar o estado da técnica ou *Know-how* proveniente dessas instituições desenvolvedoras.

O estudo está baseado em duas vertentes: 1) a análise baseada nos dados publicados pelas instituições que as desenvolvem avaliando a tecnologia empregada, por meio de artigos científicos publicados, os ensaios clínicos e informações disponíveis na página das instituições; 2) Análise dos pedidos de patente relacionados às vacinas em questão se houver, e dos pedidos de patente das instituições desenvolvedora de tecnologias correlatas, mais próximas a tecnologia da vacina em desenvolvimento. As tecnologias correlatas às do estudo correspondem a cada tecnologia individualmente, apesar de utilizarem DNA em suas preparações são produzidas, elaboradas através de mecanismos diferentes.

3.METODOLOGIA DE BUSCA

A busca dos pedidos de patente relacionados às vacinas foi realizada na base *Derwent Innovations Index* pelo nome da(s) instituição(ões) que a desenvolvem. Quando o número de pedidos da instituição pesquisada era muito grande fez-se um recorte nas patentes classificadas em A61K 38*, A61K 39*, A61K 48*, A61k 35/76 ou C12N 15* e através de palavras chaves de acordo com a tecnologia de cada vacina analisada. Após esse

recorte os pedidos foram lidos para avaliação da pertinência ao presente estudo.

As informações sobre os dados bibliográficos dos pedidos foram obtidas nas bases do INPI e outras informações importantes foram levantadas na base *Derwent Innovation™*, que cedeu ao INPI suas informações para divulgação. A iniciativa da plataforma foi colaborar com o INPI nas ações que contribuam de forma direta ou indiretamente, com a busca de soluções para o tratamento da COVID-19.

Os documentos de patentes selecionados neste estudo buscam mostrar o *Know How* dos envolvidos no desenvolvimento destas vacinas como também são considerados com relevância para tomadas de decisão relacionadas à pesquisa e desenvolvimento, à produção, compras, comercialização de produtos correlacionados.

O trabalho resultou em 05 planilhas, que foram disponibilizadas em formato Excel para melhor análise do usuário: planilha 1 correlacionada a Vacina **INO-4800** a planilha 2 correlacionada Vacina **GX-19 da Genexine**, planilha 3 correlacionada a vacina **ZyCoV-D da Cadila** e planilha 4 correlacionada a Vacina **AG0301-COVID-19 da Osaka**. O anexo 1 planilha 5 contém a estratégia de busca por instituição na base *Derwent Innovations* e os respectivos resultados

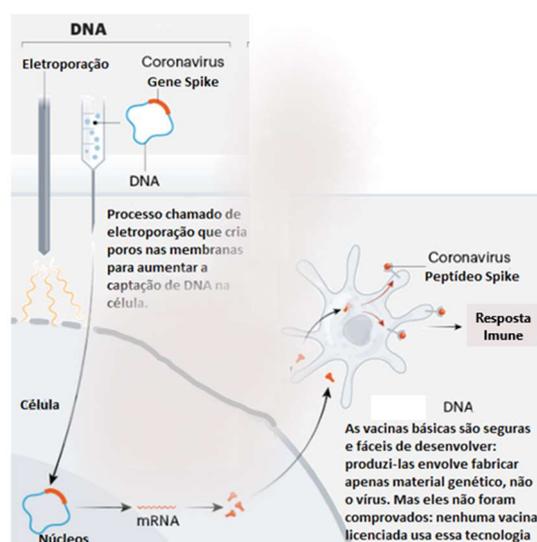
Dentre os pedidos selecionados escolheu-se descrever alguns dos pedidos como forma de demonstrar que há tecnologias próximas, ou seja, um estado da técnica relevante advindo destes desenvolvedores de vacinas.

4. VACINAS DE DNA

As vacinas de DNA sintéticas representam as terapias de nova geração. Neste tipo de tecnologia, a sequência de DNA é introduzida, frequentemente facilitada por nano-transportadoras, para as células de um tecido específico. Uma vez que o DNA modificado faz o seu caminho para entrar no núcleo

da célula através de uma sequência alvo, esta sequência gera um RNA mensageiro que é codificado em produção de proteínas da superfície viral, no caso dos coronavírus a maioria codifica a proteína *spike* (Proteína S) do vírus, impulsionada por um promotor otimizado que é terceirizado para a maquinaria natural das células hospedeiras que irão desencadear uma resposta imunológica capaz de reverter o quadro infeccioso ou degenerativo instalado vide figura 2 [9], [10].

Figura 2: Vacinas de Ácidos Nucléicos



Fonte: Adaptado de Ewen Callaway [9].

Segundo Hobernik [8], as vantagens das vacinas de DNA consistem no seu desenho simples; são muito seguras; desencadeiam altos títulos de anticorpos neutralizantes, permitem a fabricação em grandes escalas e o DNA sintético possui temperatura estável (não necessita de refrigeração) facilitando a distribuição. Outra vantagem importante da vacinação baseada em DNA é a ausência de imunidade específica para o vetor, o que permite que esses produtos sejam utilizados em regimes de iniciação e reforço com vários produtos destinados ao mesmo paciente [11].

As vacinas de DNA são seguras, estáveis e podem ser produzidas em grande escala no curto

espaço de tempo e, portanto, o estudo destas vem sendo priorizado por muitos institutos de pesquisa [6].

Algumas desvantagens podem ser observadas, como: resposta imune em humanos inferior à observada em animais; doses repetidas podem cursar com toxicidade [8]. A fabricação de vacinas de DNA é significativamente mais rápida, barata e segura do que outros tipos de vacinas e é mais facilmente ampliada [8], [11]. A vacina de DNA é estável em temperatura ambiente tornando o transporte e armazenamento adequados o que facilitaria o alcance da imunização. No entanto, nenhuma vacina licenciada até agora usa essa tecnologia, o que pode tornar-se um obstáculo regulatório, que pode retardar o processo.

Com base no desenvolvimento das vacinas de DNA de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) as que se encontram em fases mais avançadas de seus ensaios clínicos frente a lista disponibilizada até o momento deste estudo exibem plataformas, características e propriedades diferentes [6].

5. VACINA INO-4800

Vacina INO-4800 da *Inovio Pharmaceuticals*, uma empresa de biotecnologia, baseia-se na injeção direta de DNA na forma de plasmídeos para o interior das células para que elas produzam anticorpos para combater a infecção. O método proposto para desenvolver a vacina INO-4800 para geração de anticorpos em um mamífero contra antígenos recombinantes é através de plasmídeos de DNA, que são pequenos círculos de DNA de fita dupla que são sintetizados ou reorganizados por uma tecnologia de sequenciamento de computador e projetados para produzir uma resposta imunológica específica no corpo [12].

A vacina INO-4800 foi projetada usando a plataforma de medicina de DNA da *Inovio*

Pharmaceuticals gerando compostos de plasmídeo. Os plasmídeos otimizados entram diretamente nas células por via intramuscular ou intradérmica, usando o dispositivo inteligente portátil da *Inovio Pharmaceuticals* chamado CELLECTRA®. O plasmídeo é injetado através da técnica de eletroporação no tecido do referido mamífero, sendo que este plasmídeo de DNA compreende uma sequência codificadora operacionalmente ligada a um promotor.

Para tal um dispositivo de eletroporação capaz de fornecer um pulso elétrico eficaz para eletroporar células do referido tecido é necessário para permitir a entrada do plasmídeo de DNA e ter a expressão do antígeno escolhido, permitindo que o mamífero responda ao antígeno expresso a fim de gerar anticorpos para o referido antígeno.

O dispositivo CELLECTRA® usa um breve pulso elétrico para abrir reversivelmente pequenos poros na célula para permitir que os plasmídeos entrem, superando uma limitação fundamental de outras abordagens baseadas em injeção de DNA [11].

Uma vez dentro da célula, os plasmídeos de DNA permitem que a célula produza o antígeno-alvo. O antígeno é processado naturalmente na célula e desencadeia a ativação das células T desejadas bem como as respostas imunes mediadas por anticorpos. A administração com o dispositivo CELLECTRA® garante que a vacina de DNA seja administrada com eficiência, diretamente nas células do corpo, onde pode trabalhar para impulsionar uma resposta imunológica [13].

A vacina INO-4800 resultou em uma expressão robusta da proteína S *in vitro* e após a imunização de camundongos e porquinhos da índia os títulos de antígenos específicos foram mensurados obtendo respostas das células T e anticorpos funcionais que neutralizaram a infecção por SARS-

CoV-2 bloqueando a ligação da proteína S ao receptor ECA2 e a biodistribuição do direcionamento de anticorpos para os pulmões [12].

As respostas das células T e B de memória induzidas pela vacina durante a expansão aguda e as fases de memória em *macacos rhesus*, bem como a capacidade da memória induzida pela vacina de impactar a infecção em um desafio de infecção viral nos macacos após a vacinação foram avaliados em *macacos rhesus* (n = 5) que receberam duas imunizações de INO-4800 (1 mg), na semana 0 e na semana 4 e animais de controle (n = 5) que não receberam vacina. As respostas imunes humorais e celulares foram monitoradas por 15 semanas (4 meses) após a imunização inicial para respostas de memória. Todos os animais apresentaram soroconversão após uma única imunização com a INO-4800, com títulos de IgG séricos detectados contra o domínio extracelular S1 + S2 de comprimento total S1, S2 e regiões RBD da proteína S de SARS-CoV-2. Anticorpos com reatividade cruzada também foram detectados contra a proteína S1 do SARS-CoV e RBD, mas não do MERS-CoV [14], [13], [14].

Foram selecionados 35 documentos de patentes relacionados a esta vacina os quais se encontram disponíveis em tabela anexa (anexo 1, planilha 1).

Dentre os documentos de patentes mais relevantes para a vacina em desenvolvimento da empresa desenvolvedora *INOVIO Pharmaceutical* tem-se o WO2015/081155 (não há correspondente no Brasil) publicado em 04/06/2015 que corresponde a patente da vacina que compreende uma molécula de ácido nucleico, em que a molécula de ácido nucleico pode compreender uma sequência de ácido nucleico tendo pelo menos cerca de 90% de identidade ao longo de todo o comprimento da sequência de ácido nucleico estabelecida na SEQ ID NO: 1 ou a molécula de ácido nucleico pode compreender uma sequência

de ácido nucleico com pelo menos cerca de 90% identidade ao longo de todo o comprimento da sequência de ácido nucleico apresentada em SEQ ID NO: 3. As sequências correspondem ao antígeno da Proteína S do MERS-CoV. O documento de patente também reivindica um método de induzir uma resposta imune compreendendo a administração de uma composição imunogênica (vacina) caracterizado pelo fato de que a administração inclui uma injeção de eletroporação.

Outro documento de patente relevante é o WO2009065032 (sem correspondente no Brasil) publicado em 22/05/2009 que corresponde ao dispositivo de eletroporação de corrente constante adaptativa conhecido como CELLECTRA® [15]. Este documento de patente também revelou métodos de isolamento de anticorpos específicos contra antígenos desejados em que os referidos anticorpos são gerados em um mamífero usando Plasmídeos de DNA capazes de expressar os referidos antígenos.

Atualmente, a INO-4800 encontra-se nas fases clínicas 1 e 2 conforme o *clinical trials* [NTC04336410](#) que envolve 120 participantes tendo a estimativa para finalização do ensaio em julho de 2021.

Os ensaios em andamento correspondem a fase I nos EUA onde foi administrado doses de 0,5 mg e 1 mg [16], e em um ensaio de fase I-II na República da Coreia onde foi administrado 1 mg 2 mg em uma população de 18 a 64 anos [17].

6. VACINA GX-19

O desenvolvimento da vacina GX-19 é uma parceira das empresas coreanas Genexine, Binex, *International Vaccine Institute*, Genbio, o Instituto Avançado de Ciência e Tecnologia da Coreia (KAIST) e a Universidade Pohang de Ciência e Tecnologia (POSTECH). A vacina está sendo desenvolvida

usando a tecnologia da plataforma da Genexine e fabricada com as boas práticas de fabricação da Binex. Esta vacina envolve um vetor que entrega um DNA modificado com informação genética do vírus [18].

O Instituto de Pesquisa da Coreia do *Bioscience and Biotechnology* (KRIBB) demonstrou que o estudo com primatas onde foi administrada a vacina de DNA GX-19 e submetido ao desafio com o vírus SARS-CoV-2 não desenvolveu febre, ao contrário do braço controle. Após 48 horas, os pesquisadores não detectaram vírus nas vias aéreas superiores dos primatas [18].

Foram selecionados 31 documentos de patentes relacionados a esta vacina os quais se encontram disponíveis em tabela anexa (anexo 1, planilha 2).

Dentre os documentos de patentes levantados da desenvolvedora da vacina GX-19, a Genexine, vale destacar:

O documento WO2004067020 (sem correspondente no Brasil) divulga uma composição de vacina que inclui um adjuvante peptídico e uma vacina de DNA que codifica uma proteína imunogênica como também divulga um método para aumentar as respostas imunes, que se baseia na administração da composição da vacina.

O documento WO2003048366 (sem correspondente no Brasil) que se refere à plasmídeos imunogênicos mostrando eficiência de expressão de imunógenos e eficácia imunológica no modelo de *macaco rhesus* / SIVmac239 e descreve a vacinas de DNA para profilaxia ou tratamento da AIDS contendo os plasmídeos imunogênicos.

Já o documento KR2007073299 (sem correspondente no Brasil) que se refere a um vetor de adenovírus capaz de inibir a formação de adenovírus competente para replicação que é usado com

segurança em terapia gênica e terapia celular de várias doenças. Isso é realizado através de uma técnica que compreende substituir uma sequência gênica por outra cuja homologia do gene de adenovírus é diminuída.

Outro documento pertinente é o documento KR2004073904 (sem correspondente no Brasil) que se refere a uma composição compreendendo adenovírus recombinante cuja fibra é modificada e tem policatão, em que o adenovírus recombinante é AdG; e o policatão é polibreno, sulfato de protamina, lipopectamina, DOTAP (1,2-dioleoil-3-trimetilamônio-propano) e CaCl₂, de preferência sulfato de protamina e policatão com maior eficiência de transferência de genes. Este documento demonstra uma forma de aumentar a eficiência de transferência de genes de adenovírus ao tratar o mesmo com uma fibra modificada com policatão que promove ligações entre diferentes partes da cadeia do polímero negativamente carregado.

Por fim o documento de patente KR841732 (sem correspondente no Brasil) que revela a tecnologia de vacina de DNA correspondendo a um processo de fabricação da vacina para prevenir e tratar a hepatite B crônica que compreende genes que codificam o antígeno da proteína de superfície do vírus da hepatite B.

Até a data deste estudo os ensaios clínicos encontram-se nas fases clínicas 1 e 2 na República da Coreia conforme o *clinical trials* [NTC04445389](#) que envolve 210 participantes onde a administração é por via intramuscular em um protocolo de escalonamento de dose de 28 dias separados tendo a estimativa para finalização do ensaio em junho de 2022 [19].

7. VACINA ZYCOV-D (NCOV VACCINE)

O Centro de Tecnologia de Vacinas de *Zydus Cadila Healthcare Ltd.* (também conhecida como *ZydusCadila*, Ahmedabad, Índia) que está desenvolvendo a vacina de DNA ZyCoV-D tem uma

ampla gama de recursos no desenvolvimento e fabricação de vacinas virais, toxóides, polissacarídeos, conjugados e outras vacinas de subunidade. O desenvolvimento da vacina ocorre através de uma plataforma de vacina de DNA que usa um plasmídeo não replicante e não integrador carregando o gene de produção de interesse [11], [18].

Segundo o *press-release* da ZyCov-D (22)(46) a plataforma pode ser usada rapidamente para modificar a vacina em algumas semanas, caso o vírus sofra alguma mutação. O DNA de plasmídeo, quando introduzido nas células hospedeiras é traduzido nas proteínas virais e provoca uma forte resposta imunológica mediada tanto de forma celular quanto humoral desempenhando uma proteção contra a doença provocada pelo vírus [20].

Foram selecionados 75 documentos de patente relacionados a essa vacina, os quais se encontram disponíveis em tabela (Anexo 1, planilha 3).

Dentre os documentos de patente encontrados pertencentes aos desenvolvedores da vacina que demonstram um ponto de partida para a viabilidade da vacina em questão são:

O documento BRPI0707078 com data de depósito 05/03/2007 que corresponde a produção de plasmídeo extra cromossomal contendo o produto de gene no interior da célula em sua forma própria.

O documento BRPI0909547 com data de depósito 26/05/2009 que corresponde a uma vacina DNA (plasmídeo) que codifica proteínas de sarampo e HPV compreendendo vetor viral recombinante com ácido nucléico heterólogo que codifica antígenos simples ou variados derivados a partir do vírus de HPV.

O documento BRPI1007584 com data de depósito 03/05/2010 que se refere a uma vacina combinada contra sarampo-malária contendo

diferentes vetores atenuados recombinantes de sarampo-malária e compreendendo um ácido nucleico heterólogo que codifica vários antígenos de *Plasmodium falciparum*. Este documento também revela a clonagem do gene sintético que ocorre no plasmídeo intermediário.

Até a data deste estudo os ensaios clínicos encontram-se nas fases clínicas 1 e 2 na Índia conforme o *clinical trials* [CTRI/2020/07/026352](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study?term=CTRI/2020/07/026352) que envolve 1.048 participantes através da administração por via intramuscular em um protocolo de escalonamento de três doses de 0,5mL com intervalos de 28 dias separados não apresentando uma estimativa para finalização do ensaio até o presente momento com duas faixas etárias, um de 12 a 55 e outro de 12 a 65 anos [21].

8. VACINA AG0301

A farmacêutica AnGes em parceria com a Universidade de Osaka vem desenvolvendo uma vacina baseada em DNA junto com um adjuvante.

A AnGes e a Universidade de Osaka já possuem experiência na tecnologia de plasmídeo de DNA e propõem a vacina AGO301, cujo o mecanismo é inocular um DNA circular (plasmídeo) que codifica a proteína do patógeno alvo na célula de mamífero hospedeiro.

Segundo os desenvolvedores, as células hospedeiras irão captar o DNA e expressar a proteína do patógeno no corpo do hospedeiro gerando uma resposta imune contra ela. O hospedeiro terá então anticorpos circulantes que irão teoricamente neutralizar o vírus do tipo selvagem, protegendo o hospedeiro e imunizando-o contra o patógeno [22]

As operações de manufatura serão realizadas pela Takara Bio Inc., que possui *Know How* na manufatura desta tecnologia e instalações para a síntese de plasmídeo de DNA.

A Takara Bio Inc está desenvolvendo um método de transferência de gene intradérmico,

usando um novo dispositivo de administração visando a sua aplicação clínica. O uso deste novo dispositivo de administração deve aumentar a eficiência da expressão genética intradérmica e capacidade de produção de anticorpos [22].

Conforme os próprios desenvolvedores citaram a tecnologia correspondente ao plasmídeo veio da Universidade Osaka e da farmacêutica Angen enquanto a tecnologia de transferência gênica ficou a cargo da Takara Bio. Foi com base neste campo tecnológico específico que os documentos foram levantados.

Foram selecionados 83 documentos que se encontram disponíveis em tabela anexa (Anexo 1, planilha 4). Dentre os documentos mais relevantes pode-se destacar:

O documento EP0517418 (sem correspondente no Brasil) corresponde a um método para clonar um gene para polimerase de DNA do tipo Pol I compreendendo; (a) amplificar o DNA alvo com PCR usando iniciadores específicos para o referido gene; e (b) clonar um gene para polimerase de DNA do tipo Pol I com uma sonda selecionada a partir do referido DNA amplificado. Esta invenção é ainda dirigida a um novo gene isolado que codifica para a polimerase de DNA do tipo Pol I clonada no plasmídeo.

O documento WO2020013058 (sem correspondente no Brasil) corresponde a um mutante de DNA polimerase com atividade de transcriptase reversa caracterizado por um aminoácido que pode ser substituído por um resíduo de aminoácido básico diferente daquele anterior à introdução da mutação; um kit e uma composição incluindo a DNA polimerase; um método para produzir a DNA polimerase; e um método para modificar uma polimerase de DNA existente possuindo atividade de transcriptase reversa.

O documento WO2019212615 (sem correspondente no Brasil) corresponde a métodos de amplificação de ácidos nucleicos em uma amostra que incluem: a) fragmentação de ácidos nucleicos na amostra para produzir uma amostra de ácido nucleico fragmentada; b) contactar a amostra de ácido nucleico fragmentada com um iniciador de síntese de cDNA compreendendo um domínio de origem de RNA sob condições de síntese de cDNA para produzir uma composição de ácido nucleico de produto; e c) amplificar a composição de ácido nucleico do produto. Composições e kits para uso na execução dos métodos também são fornecidos.

O documento WO0183787 (sem correspondente no Brasil) se refere a promotores capazes de expressar um gene em um alto nível sem induzir a expressão do gene; DNAs recombinantes; vetores para expressão gênica; vetores de expressão; células transformadas; um processo para produzir uma proteína que pode ser convenientemente realizado a baixo custo; um kit para o mesmo; um DNA recombinante em que o DNA montado e um gene de interesse são fornecidos em um estado que permite a expressão do gene de interesse; um vetor para expressão de gene que contém pelo menos o DNA montado; um vetor de expressão contendo o DNA recombinante montado; células transformadas contendo o DNA recombinante montadas ou o vetor de expressão montado.

O documento WO9734006 (sem correspondente no Brasil) se refere a um vetor plasmídeo caracterizado por ter uma sequência promotora que pode ser reconhecida por uma RNA polimerase que não é inerente a um hospedeiro e que controla a expressão de genes alvo e uma origem de replicação que aumenta o número de cópias sob a indução por fatores exógenos; métodos de expressão e isolamento de genes alvo usando o vetor; um polipeptídeo possuindo a atividade de uma enzima de restrição; e um DNA que codifica o polipeptídeo.

O documento WO201211280 (sem correspondente no Brasil) se refere a um vetor de expressão para codificar o polipeptídeo do antígeno do núcleo do vírus da hepatite B quimérico no qual o epítipo específico do fator de doença é inserido.

O documento EP372904 (sem correspondente no Brasil) se refere a um método para a produção de proteínas retrovirais que são protease, transcriptase reversa, endonuclease e Gag. O método é caracterizado pela realização consecutiva de expressão e processamento de genes retrovirais e esses produtos sob o cultivo em etapas de hospedeiros transformados com um vetor construído para transportar fragmentos de genes retrovirais compreendendo pelo menos um gene de protease e um ou mais dos outros genes que codificam para proteínas retrovirais.

O documento JP2013052202 (sem correspondente no Brasil) se refere a uma microagulha feita de polissacarídeos que se dissolvem e desaparecem dentro da pele é feita para conter a vacina de DNA. Quando a vacina de DNA é um plasmídeo de expressão de ovalbumina (OVA), a microagulha da vacina de DNA tem uma propriedade de indução de imunidade desviada para a resposta imune Th1. Como polissacarídeos, a microagulha de vacina de DNA pode usar uma mistura de ácido hialurônico, dextrano e polivinilpirrolidona.

Por fim, o documento WO2012121071 (sem correspondente brasileiro) que se refere a eficiência de transferência de genes a partir de um vetor de adenovírus (Ad) que é equivalente ou maior do que a de vetores de Ad convencionais; ou seja, um vetor capaz de ser usado com eficácia e segurança em terapia gênica e pesquisa em ciências biológicas. Além disso, são fornecidas células produtoras/amplificadoras de vetor Ad, capazes de amplificar o vetor Ad.

Até o momento, esta vacina encontra-se nas fases I e II dos ensaios clínicos, conforme os clinical trials [NCT 04463472](#) e [NCT04527081](#), os ensaios não são randomizado são abertos e cada fase contém 30 voluntários [23]. A proposta de administração é dividida em grupos com 2 doses baixas (1.0 mg) em intervalos de 15 dias e outro com dose mais elevada (2.0 mg) com mesmo intervalo de 15 dias entre as doses. A estimativa de finalização destes ensaios clínicos é julho de 2021 e setembro de 2021, respectivamente.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo faz parte de uma série de publicações em desenvolvimento no INPI para relacionar tecnologias envolvidas em estratégias para condução e controle da epidemia da COVID-19. Particularmente, o estudo de VACINAS de DNA tem por objetivo atualizar o panorama relacionado ao desenvolvimento de vacinas em investigação clínica para a prevenção da COVID-19.

Neste sentido, o presente trabalho pode ser utilizado como fonte de informação técnica tanto por pesquisadores quanto por responsáveis por tomada de decisões nos âmbitos público e privado. Desta forma, espera-se que este e outros estudos do INPI possam ser utilizados como auxiliares na avaliação de decisões de comercialização, produção, compras e priorização de exame dos pedidos de patente e/ou licenciamento de patentes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) REN, LI-LI et al. "Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study." Chinese medical journal vol. 133,9 (2020): 1015-1024. doi:10.1097/CM9.0000000000000722
- (2) Gouglas, D., et al. 2018. *Lancet Glob. Health*. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30346-2](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30346-2)
- (3) Young, R., et al. 2018. *Gates Open Res*. <https://doi.org/10.12688/gatesopenres.12817.1>
- (4) Jerome H. Kim; SARS-CoV-2 vaccine development, access, and equity. *J Exp Med* 2 November 2020; 217 (11): e20201288. doi: <https://doi.org/10.1084/jem.20201288>
- (5) BUCKLAND, B. The process development challenge for a new vaccine. *Nature Medicine Supplement*, v. 11, n. 4, 2005. Lee J 2020 These 16 companies are working on coronavirus treatments or vaccines — here's where things stand. *MarketWatch* March 24
- (6) World Health Organization – Landscape Analysis of Candidate Vaccines for COVID-19. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>
- (7) Mukherjee R. Global efforts on vaccines for COVID-19: Since, sooner or later, we all will catch the coronavirus. *J Biosci*. 2020;45(1):68. doi:10.1007/s12038-020-00040-7
- (8) Hobemik D and Bros M 2018 DNA vaccines-how far from clinical use? *Int. J. Mol. Sci.* 19 10.3390/ijms19113605
- (9) *Nature* 580, 576-577 (2020) doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01221-y> acesso 15 de outubro de 2020.
- (10) Amanat, F. & Krammer, F. Perspective SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Immunity* 52, 583–589 (2020).
- (11) Smith, T.R.F., Patel, A., Ramos, S., Elwood, D., Zhu, X., Yan, J., Gary, E.N., Walker, S.N., Schultheis, K., Purwar, M., Xu, Z., Walters, J., Bhojagarwala, P., Yang, M., Chokkalingam, N., Pezzoli, P., Parzych, E., Reuschel, E.L., Doan, A., Tursi, N., Vasquez, M., Choi, J., Tello-Ruiz, E., Maricic, I., Bah, M.A., Wu, Y., Amante, D., Park, D.H., Dia, Y., Ali, A.R., Zaidi, F.I., Generotti, A., Kim, K.Y., Herring, T.A., Reeder, S., Andrade, V.M., Buttigieg, K., Zhao, G., Wu, J.-M., Li, D., Bao, L., Liu, J., Deng, W., Qin, C., Brown, A.S., Khoshnejad, M., Wang, N., Chu, J., Wrapp, D., McLellan, J.S., Muthumani, K., Wang, B., Carroll, M.W., Kim, J.J., Boyer, J., Kulp, D.W., Humeau, L.M.P.F., Weiner, D.B., Broderick, K.E., 2020. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nature Communications*. doi:10.1038/s41467-020-16505-0
- (12) Maurya, C.K., Misra, R., Sharma, P., Singh, N., Awasthi, H., Agrawal, R., Misra, S., Dwivedi, S., 2020. Novel Stem Cells and Nucleic Acid-Based Vaccine Trials Against Viral Outbreak: A Systematic Evaluation During COVID-2019 Pandemic. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. doi:10.1007/s12291-020-00907-4
- (13) http://s23.q4cdn.com/479936946/files/doc_news/INOVIOs-COVID-19-DNA-Vaccine-INO-4800-Provides-Protection-with-Memory-Immune-Responses-In-Non-Human-Primates-Challenged-with-SARS-CoV-FL2EE.pdf
- (14) Patel, A. et al. Intradermal-delivered DNA vaccine provides anamnestic protection in a rhesus macaque SARS-CoV-2 challenge model (2020). doi:10.1101/2020.07.28.225649
- (15) Safety, Tolerability and Immunogenicity of INO-4800 for COVID-19 in Healthy Volunteers. 2020. Available online: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04336410> (accessed on 27 July 2020).
- (16) Safety, Tolerability and Immunogenicity of INO-4800 Followed by Electroporation in Healthy Volunteers for COVID19. 2020. Available online: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04447781> (acesso em 27 de julho de 2020).
- (17) nces-Positive-Interim-Phase-1-Data-For-INO-4800-Vaccine-for-COVID-19/default.aspx acesso 01 de outubro de 2020.
- (18) <http://www.koreabiomed.com/news/articleView.html?idxno=9002>
- (19) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04445389?term=vaccine&cond=covid-19&draw=3>
- (20) Zydus Cadila Announces Completion of Dosing in Phase I Clinical Trial of ZyCoV-D
- (21) CTRI/2020/07/026352. Novel Corona Virus-2019-nCov Vaccine by Intradermal Route in Healthy Subjects. 2020. Available online: <http://www.ctri.nic.in/Clinicaltrials/pmaindet2.php?trialid=45306> (acesso em 27 julho 2020).
- (22) [https://www.anges.co.jp/en/pdf.php?pdf=ufzQVufZJCGi8qUSM4PyOvWg6Ct36BM.pdf\(23\)https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04463472](https://www.anges.co.jp/en/pdf.php?pdf=ufzQVufZJCGi8qUSM4PyOvWg6Ct36BM.pdf(23)https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04463472) acesso 31/08/2020
- (23) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04463472> acesso 31/08/2020