



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2014138418, 23.02.2013

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

24.02.2012 US 61/602,827;

24.09.2012 US 61/704,866

(43) Дата публикации заявки: 10.04.2016 Бюл. № 10

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 24.09.2014

(86) Заявка РСТ:

EP 2013/053644 (23.02.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2013/124473 (29.08.2013)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

НОВАРТИС АГ (СН)

(72) Автор(ы):

МАЙОНЕ Доменико (ИТ),**КОЦЦИ Роберта (ИТ),****РИНАУДО Чира Даниела (ИТ),****ЛАДЗАРИН Маддалена (ИТ),****ДЗЕРБИНИ Франческа (ИТ),****МАРГАРИТ И РОС Иммакулада (ИТ)**(54) **БЕЛКИ ПИЛЕЙ И КОМПОЗИЦИИ**

(57) Формула изобретения

1. Способ лигирования по меньшей мере двух молекул, где указанный способ включает контактирование по меньшей мере двух молекул с ассоциированным с пиями ферментом сортазой C *in vitro* в условиях, подходящих для осуществления опосредуемой сортазой реакции транспептидации, где ассоциированный с пиями фермент сортаза C содержит на своей поверхности активный центр.

2. Способ по п. 1, где ассоциированный с пиями фермент сортаза C происходит от стрептококков.

3. Способ по п. 2, где стрептококки выбраны из группы, состоящей из *Streptococcus agalactiae* (GBS), *Streptococcus pneumoniae* (пневмококков) и *Streptococcus pyogenes* (GAS).

4. Способ по п. 3, где указанным ассоциированным с пиями ферментом сортазой C являются фермент сортаза C1 (SrtC1), фермент сортаза C2 (SrtC2) или фермент сортаза C3 (SrtC3).

5. Способ по любому из пп. 1-4, где мутация ассоциированного с пиями фермента сортазы C включает делецию части или всей lid-области.

6. Способ по п. 5, где указанная мутация включает делецию аминокислот в положениях 84, 85 и/или 86 аминокислотной последовательности фермента сортазы C1 GBS PI-2a (SEQ ID NO: 3) или делецию аминокислот в соответствующих положениях в аминокислотной последовательности другого ассоциированного с пиями фермента

сортазы С.

7. Способ по любому из пп. 1-4, где указанная мутация включает замену аминокислот в положениях 84, 85 и/или 86

аминокислотной последовательности фермента сортазы С1 GBS PI-2a (SEQ ID NO: 3) или замену аминокислот в соответствующих положениях аминокислотной последовательности другого фермента сортазы С.

8. Способ по любому из пп. 1-4, где ассоциированный с пиями фермент сортаза С содержит, или состоит из нее, аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70 и 71.

9. Способ по п. 2, где по меньшей мере две молекулы содержат мотив LPxTG и мотив пилина.

10. Способ по п. 2, где по меньшей мере две молекулы происходят от грам-положительных бактерий.

11. Способ по п. 10, где по меньшей мере две молекулы происходят от одной и той же грам-положительной бактерии или от различных грам-положительных бактерий.

12. Способ по п. 9, где по меньшей мере две молекулы происходят от стрептококковых полипептидов.

13. Способ по п. 10, где по меньшей мере две молекулы происходят от стрептококковых полипептидов.

14. Способ по п. 12, где по меньшей мере двумя молекулами являются каркасные белки и/или вспомогательные белки стрептококков.

15. Способ по п. 14, где по меньшей мере две молекулы включают аминокислотную последовательность или состоят из аминокислотной последовательности, которая: (а) на 50% или более (например, на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или более) идентична полипептиду, имеющему любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96 или 97; или (б) представляет собой фрагмент по меньшей мере из "n" смежных аминокислот одной из этих последовательностей, где "n" равно числу 20 или более (например, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 или более; например, 20 или более; или, например, 50 или более; или, например, 80 или более).

16. Искусственные пили, которые были получены или могут быть получены способом по любому из пп. 1-15.

17. Искусственные пили, содержащие по меньшей мере два варианта каркасного белка GBS59, где указанные по меньшей мере два варианта выбраны из группы, состоящей из штаммов стрептококков группы В, а именно, 2603, H36В, 515, СJB111, СJB110 и DK21.

18. Искусственные пили по п. 16 или 17, которые могут быть использованы в медицине.

19. Искусственные пили по п. 16 или 17, которые могут быть использованы для предупреждения или лечения стрептококковых инфекций.

20. Способ лечения или предупреждения стрептококковой инфекции у пациента, где указанный способ включает введение указанному пациенту, нуждающемуся в этом, эффективного

количества искусственных пилей по п. 16 или 17.

21. Способ по п. 2, где по меньшей мере две молекулы включают первую часть, содержащую аминокислотный мотив LPxTG, где X означает любую аминокислоту, и

вторую часть, содержащую по меньшей мере одну аминокислоту.

22. Способ по п. 21, где первой молекулой является первый полипептид, а второй молекулой является второй полипептид.

23. Способ по п. 22, где указанные первый полипептид и второй полипептид происходят от грам-положительной бактерии.

24. Способ по п. 23, где указанные первый полипептид и второй полипептид происходят от одной и той же грам-положительной бактерии или от различных грам-положительных бактерий.

25. Способ по п. 23 или 24, где указанные первый полипептид и второй полипептид являются полипептидами стрептококков.

26. Способ по п. 25, где указанные первый полипептид и второй полипептид представляют собой каркасные белки и/или вспомогательные белки стрептококков.

27. Способ по п. 21, где первая молекула или вторая молекула содержат детектируемую метку.

28. Способ по п. 27, где указанной детектируемой меткой являются флуоресцентная метка, радиоактивная метка, хемилюминесцентная метка, фосфоресцирующая метка, биотиновая метка или стрептавидиновая метка.

29. Способ по п. 21, где первая молекула или вторая молекула представляет собой полипептид, а другая молекула представляет собой белок или гликопротеин, присутствующий на поверхности клетки.

30. Способ по п. 21, где первая молекула или вторая молекула представляет собой полипептид, а другая молекула содержит аминокислоты, конъюгированные с твердым носителем.

31. Способ по п. 21, где первая молекула или вторая молекула представляет собой полипептид, а другая молекула содержит по меньшей мере одну аминокислоту, конъюгированную с полинуклеотидом.

32. Способ по п. 21, где первая молекула и вторая молекула представляют собой N-конец и C-конец полипептидной цепи, где лигирование приводит к образованию кольцевого полипептида.

33. Способ по п. 9, где мотив пилина содержит аминокислоты YPAN.

34. Набор, содержащий фермент сортазу C1 PI-2b или фермент сортазу C2 PI-2b *Streptococcus agalactiae*, и молекулу, содержащую аминокислотный мотив LPXTG, где X означает любую аминокислоту.

35. Конъюгат, который был получен или может быть получен способом по любому из пп. 21-32.