



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2014110953/10, 22.08.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
22.08.2011 EP 11178322.1;
22.08.2011 US 61/526,054

(43) Дата публикации заявки: 27.09.2015 Бюл. № 27

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 24.03.2014(86) Заявка РСТ:
EP 2012/066360 (22.08.2012)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2013/026887 (28.02.2013)

Адрес для переписки:

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

(71) Заявитель(и):

ГЛИКОТОП ГМБХ (DE)

(72) Автор(ы):

**ГОЛЕТЦ Штеффен (DE),
ЮЛЬСЕМЕ Филипп (DE),
ТОУТОУНИАН Каве (DE)**(54) **МИКРООРГАНИЗМЫ, НЕСУЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЙ АНТИГЕН**

(57) Формула изобретения

1. Core-1-положительный микроорганизм вида *Bacteroides xylanisolvens*, или его core-1-положительный лизат, или его core-1-положительная фракция, где указанный микроорганизм, или его лизат, или его фракция распознаются по меньшей мере одним антителом, специфичным к core-1.

2. Микроорганизм по п.1, который представляет собой Coreotics (DSM25004), полученный из него микроорганизм или гомолог Coreotics.

3. Микроорганизм по п.2, где полученный из Coreotics микроорганизм или гомолог Coreotics обладает двумя или более из следующих характеристик:

а) принадлежит к виду *Bacteroides xylanisolvens*;

б) при анализе ДНК-ДНК гибридизации демонстрирует родство ДНК-ДНК по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%, более предпочтительно по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% с Coreotics, депонированным как DSM 25004, и/или с *Bacteroides xylanisolvens*, депонированным как DSM 18836;

с) демонстрирует уровень сходства последовательности гена 16S рРНК по меньшей мере на 98%, предпочтительно по меньшей мере на 99%, более предпочтительно на 100% с Coreotics, депонированным как DSM 25004, и/или с *Bacteroides xylanisolvens*, депонированным как DSM 18836; и/или

d) демонстрирует экспрессию антигена core-1, которая имеет одну или более из следующих характеристик:

i) имеет средний уровень экспрессии антигена core-1, составляющий по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85% или по меньшей мере 90%, более предпочтительно по меньшей мере 95% от среднего уровня экспрессии core-1 у Coreotics, депонированного как DSM 25004;

ii) достигает значения оптической плотности, равного по меньшей мере 0,3, предпочтительно по меньшей мере 0,35 в анализе ELISA, как описано в примере 2;

iii) экспрессирует на клеточной поверхности по меньшей мере одну углеводную структуру, выбранную из группы, состоящей из структур #1, #2, #3, #4 и #5, представленных на Фиг.4, аналогичных им структур и/или их повторяющихся звеньев;

iv) в клеточной культуре указанного микроорганизма по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%, более предпочтительно примерно 100% указанных микроорганизмов имеют уровень экспрессии антигена core-1, составляющий по меньшей мере 75%, предпочтительно по меньшей мере 80% от среднего уровня экспрессии антигена core-1 у Coreotics, депонированного как DSM 25004; и/или

v) в клеточной культуре указанного микроорганизма по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%, более предпочтительно примерно 100% указанных микроорганизмов имеют уровень экспрессии антигена core-1, находящийся в диапазоне от 70% до 150%, предпочтительно от 70% до 125% от среднего уровня экспрессии антигена core-1 у Coreotics, депонированного как DSM 25004.

4. Микроорганизм по п.1, где указанный микроорганизм имеет экспрессию антигена core-1, которая обладает одной или более из следующих характеристик:

a) достигает значения оптической плотности, равного по меньшей мере 0,3 и более предпочтительно по меньшей мере 0,35 в анализе ELISA, как описано в примере 2;

b) имеет средний уровень экспрессии антигена core-1, составляющий по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85% или по меньшей мере 90%, более предпочтительно по меньшей мере 95% от среднего уровня экспрессии core-1 у Coreotics, депонированного как DSM 25004;

c) содержит по меньшей мере одну углеводную структуру, выбранную из группы, состоящей из структур #1, #2, #3, #4 и #5, представленных на Фиг.4, аналогичных им структур и/или их повторяющихся звеньев;

d) способен продуцировать жирные кислоты с короткой цепью; и/или

e) в клеточной культуре указанный микроорганизм имеет по меньшей мере одну из следующих характеристик:

i) по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%, более предпочтительно примерно 100% указанных микроорганизмов в указанной культуре клеток имеют уровень экспрессии антигена core-1, составляющий

aa) по меньшей мере 75% от среднего уровня экспрессии антигена core-1 у указанного микроорганизма в клеточной культуре; и/или

bb) по меньшей мере 75% от среднего уровня экспрессии антигена core-1 у Coreotics, депонированного как DSM 25004; и/или

ii) по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%, более предпочтительно примерно 100% указанных микроорганизмов в указанной культуре клеток имеют уровень экспрессии антигена core-1, находящийся

aa) в диапазоне от 70% до 150%, предпочтительно от 75% до 125% от среднего уровня

экспрессии антигена core-1 у указанного микроорганизма в клеточной культуре; и/или
bb) в диапазоне от 70% до 150%, предпочтительно от 75% до 125% от среднего уровня экспрессии антигена core-1 у Coreotics, депонированного как DSM 25004.

5. Микроорганизм по п.1, где микроорганизм, или его лизат, или его фракция распознаются и таким образом связывается по меньшей мере одним антителом, специфичным к core-1, когда антитело, специфичное к core-1, контактирует с микроорганизмом, или его лизатом, или его фракцией в подходящих для связывания условиях, где указанное связывание антитела, специфичного к core-1, с микроорганизмом, или его лизатом, или его фракцией обладает одной или более из следующих характеристик:

а) антитело, специфичное к core-1, выбрано из группы следующих антител:

i) антитело, имеющее набор CDR, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1 в качестве CDR-H1, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2 в качестве CDR-H2, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3 в качестве CDR-H3, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4 в качестве CDR-L1, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5 в качестве CDR-L2 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6 в качестве CDR-L3;

ii) антитело, имеющее набор CDR, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7 в качестве CDR-H1, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8 в качестве CDR-H2, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9 в качестве CDR-H3, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10 в качестве CDR-L1, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11 в качестве CDR-L2 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12 в качестве CDR-L3;

iii) антитело NemoD-TF1; и

iv) антитело NemoD-TF2;

б) микроорганизм, или его лизат, или его фракция связывается по меньшей мере двумя антителами, специфичными к core-1, где указанные по меньшей мере два core-1-специфичных антитела распознают различные эпитопы и предпочтительно выбраны из группы антител, определенных в п. 5 а), в частности, антител i) и ii) или антител iii) и iv);

с) связывание по меньшей мере одного core-1-специфичного антитела с микроорганизмом, или его лизатом, или его фракцией является чувствительным к периодату, так что связывание уменьшается или исчезает после обработки периодатом; и/или

д) микроорганизм, или его лизат, или его фракция содержат антиген core-1 в экспонированной форме, где указанный экспонированный антиген core-1 не маскирован другими структурами, в частности другими углеводными структурами.

6. Композиция, содержащая core-1-положительный микроорганизм, или его core-1-положительный лизат, или его core-1-положительную фракцию по любому из пп.1-5.

7. Композиция по п.6, где core-1-положительный микроорганизм вида *Bacteroides xylanisolvens* в композиции характеризуется экспрессией антигена core-1 по п.4 и/или 5.

8. Композиция по п.6, в которой по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% и более предпочтительно примерно 100% core-1-положительных микроорганизмов в композиции имеют уровень экспрессии антигена core-1, который

а) составляет по меньшей мере 75% от среднего уровня экспрессии антигена core-1 для всех core-1-положительных микроорганизмов в указанной композиции, и/или по меньшей мере 75% от среднего уровня экспрессии антигена core-1 у Coreotics, депонированного как DSM 25004; и/или

б) находится в диапазоне от 70% до 150%, предпочтительно от 75% до 125% от

среднего уровня экспрессии антигена core-1 для всех core-1-положительных микроорганизмов в культуре, и/или в диапазоне от 70% до 150%, предпочтительно от 75% до 125% от среднего уровня экспрессии антигена core-1 у Coreotics, депонированного как DSM 25004.

9. Композиция по п.6, имеющая одну или более из следующих характеристик:

- а) указанная композиция представляет собой культуру клеток; и/или
- б) core-1-положительный микроорганизм или core-1-положительные микроорганизмы в композиции присутствуют в жизнеспособной, неспособной к репродукции, нежизнеспособной или лизированной форме.

10. Фармацевтическая композиция, содержащая:

- i) core-1-положительный микроорганизм или его core-1-положительный лизат, или его core-1-положительную фракцию по любому из пп.1-5; и/или
- ii) композицию по любому из пп.6-9.

11. Фармацевтическая композиция по п.10 для индуцирования и/или усиления иммунного ответа против антигена core-1.

12. Core-1-положительный микроорганизм, или его core-1-положительный лизат, или его core-1-положительная фракция по любому из пп.1-5, композиция по любому из пп.6-9 или фармацевтическая композиция по п.10 или 11 для применения в медицине, предпочтительно для лечения или предотвращения core-1-положительных опухолей, раковых образований, желудочно-кишечных нарушений и других core-1-положительных заболеваний.

13. Способ получения core-1-положительного продукта, включающий следующие стадии:

- а) предоставление core-1-положительного микроорганизма по любому из пп.1-5;
- б) необязательная обработка указанного core-1-положительного микроорганизма с целью получения core-1-положительного лизата или его фракции;
- с) применение указанного core-1-положительного микроорганизма и/или указанного core-1-положительного лизата или его фракции для получения core-1-положительного продукта.

14. Способ по п.13, где core-1-положительный продукт представляет собой антиген-презентирующую клетку, предпочтительно дендритную клетку, и где стадия с) способа предпочтительно включает нагрузку указанной антиген-презентирующей клетки указанным core-1-положительным микроорганизмом и/или указанным его core-1-положительным лизатом, или его фракцией.

15. Применение core-1-положительного микроорганизма и/или его core-1-положительного лизата, или его core-1-положительной фракции по любому из пп.1-5 in vivo или in vitro для индуцирования или усиления core-1-специфичного иммунного ответа, и/или индуцирования титра антител против core-1, и/или получения функциональных антиген-презентирующих клеток, предпочтительно дендритных клеток, и/или активированных Т-клеток, линий Т-клеток или клонов Т-клеток или антител против core-1.