

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
21. August 2003 (21.08.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/068954 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C12N 15/85**,
15/63

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE03/00470

(22) Internationales Anmeldedatum:
13. Februar 2003 (13.02.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 06 325.7 14. Februar 2002 (14.02.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **MEDINNOVA GESELLSCHAFT FÜR MEDI-
ZINISCHE INNOVATIONEN AUS AKADEMIS-
CHER FORSCHUNG MBH** [DE/DE]; Biegenstrasse 4,
35037 Marburg (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **GOEBEL, Werner**
[DE/DE]; Am Happach 12, 97218 Gerbrunn (DE). **RAPP,**

R., Ulf [DE/DE]; Versbacher Strasse 5, 97078 Würzburg
(DE). **SEDLACEK, Hans-Harald** [DE/DE]; Sonnen-
berg 3, 35041 Marburg (DE). **FENSTERLE, Joachim**
[DE/DE]; Versbacher Str. 5, 97078 Würzburg (DE).
GENTSCHKEV, Ivaylo [BG/DE]; Bauweg 5, 97270 Kist
(DE).

(74) Anwälte: **JUNGBLUT, Bernhard** usw.; Albrecht, Lücke
& Jungblut, Gelfertstrasse 56, 14195 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MICROORGANISM FOR GENETIC THERAPEUTIC TREATMENT OF PROLIFERATIVE DISEASES

(54) Bezeichnung: MIKROORGANISMUS ZUR GENTHERAPEUTISCHEN BEHANDLUNG PROLIFERATIVER ERKRAN-
KUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to an enveloped microorganism in whose genome the following components are inserted and can be expressed: I) a nucleotide sequence that encodes a directly or indirectly, antiproliferatively or cytotoxically active expression product or a plurality of said expression products, II) a nucleotide sequence that encodes or is constitutively active for a blood plasma protein under the control of a activation sequence that can be activated in the microorganism, III) optionally, a nucleotide sequence that encodes or is constitutively active for a cell-specific ligand under the control of an activation sequence that can be activated in the microorganism, IV) a nucleotide sequence for a transport system that induces expression of the expression products of components I) and II) and optionally III) on the outer surface of the microorganism or that induces secretion of the expression products of component I) and expression of component II) and optionally component III) and that is preferably constitutively active, V) optionally a nucleotide sequence for a protein used for lysis of the microorganism in the cytosol of mammalian cells and for the intracellular release of plasmids with at least one or more components I) and VI) contained in the lysed microorganism, and VI) an activation sequence that can be activated in the microorganism, and/or that is tissue-specific, tumor cell-specific, function-specific or not cell-specific, for expressing component I). The inventive microorganism is further characterized in that any of components I) to VI) can be present either single or several times, and can be either identical or different.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung lehrt einen ummantelten Mikroorganismus, in dessen Genom folgende Komponenten eingefügt und exprimierbar sind: I) eine Nukleotidsequenz, kodierend für ein direkt oder indirekt, antiproliferativ oder zytotoxisch wirkendes Expressionsprodukt oder für mehrere verschiedene solcher Expressionsprodukte, II) eine Nukleotidsequenz, welche für ein Blutplasmaprotein unter der Kontrolle einer im Mikroorganismus aktivierbaren Aktivierungssequenz kodiert oder konstitutiv aktiv ist, III) optional, eine Nukleotidsequenz, welche für einen zellspezifischen Liganden unter der Kontrolle einer im Mikroorganismus aktivierbaren Aktivierungssequenz kodiert oder konstitutiv aktiv ist, IV) eine Nukleotidsequenz für ein Transportsystem, welches die Expression der Expressionsprodukte der Komponenten I) und II) sowie optional III) auf der Außenfläche des Mikroorganismus oder die Sekretion der Expressionsprodukte der Komponente I) und Expression der Komponente II) sowie optional III) bewirkt und vorzugsweise konstitutiv aktiv ist, V) optional eine Nukleotidsequenz für ein Protein zur Lyse des Mikroorganismus im Cytosol von Säugerzellen und zur intrazellulären Freisetzung von Plasmiden mit zumindest einer oder mehreren der Komponenten I) und VI) enthalten in dem lysierten Mikroorganismus, und VI) eine in dem Mikroorganismus aktivierbare, und/oder eine gewebezellspezifische, tumorzellspezifische, funktionsspezifische oder nicht zellspezifische Aktivierungssequenz zur Expression von Komponente I), wobei jede der Komponenten I) bis VI) einfach oder mehrfach, jeweils gleich oder verschieden, eingerichtet sein kann.

WO 03/068954 A3



TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- *mit internationalem Recherchenbericht*
- *vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen*

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen**Recherchenberichts:**

16. Oktober 2003

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 03/00470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/85 C12N15/63

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PAWELEK J M ET AL: "TUMOR-TARGETED SALMONELLA AS A NOVEL ANTICANCER VECTOR" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, vol. 57, October 1997 (1997-10), pages 4537-4544, XP002939099 ISSN: 0008-5472 the whole document --- -/--	1-19



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 July 2003

Date of mailing of the international search report

22/08/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Wimmer, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 03/00470

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GENTSCHEV I ET AL: "Delivery of protein antigens and DNA by virulence-attenuated strains of Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 83, no. 1-2, 29 September 2000 (2000-09-29), pages 19-26, XP004212147 ISSN: 0168-1656 the whole document ----	1-19
A	SU G ET AL: "EXTRACELLULAR EXPORT OF SHIGA TOXIN B-SUBUNIT/HAEMOLYSIN A (C-TERMINUS) FUSION PROTEIN EXPRESSED IN SALMONELLA TYPHIMURIUM AROA-MUTANT AND STIMULATION OF B-SUBUNIT SPECIFIC ANTIBODY RESPONSES IN MICE" MICROBIAL PATHOGENESIS, ACADEMIC PRESS LIMITED, NEW YORK, NY, US, vol. 13, no. 6, December 1992 (1992-12), pages 465-476, XP000983124 ISSN: 0882-4010 the whole document -----	1-19

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12N15/85 C12N15/63

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	PAWELEK J M ET AL: "TUMOR-TARGETED SALMONELLA AS A NOVEL ANTICANCER VECTOR" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, Bd. 57, Oktober 1997 (1997-10), Seiten 4537-4544, XP002939099 ISSN: 0008-5472 das ganze Dokument --- -/--	1-19



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

31. Juli 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

22/08/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Wimmer, G

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	GENTSCHEV I ET AL: "Delivery of protein antigens and DNA by virulence-attenuated strains of Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 83, Nr. 1-2, 29. September 2000 (2000-09-29), Seiten 19-26, XP004212147 ISSN: 0168-1656 das ganze Dokument ----	1-19
A	SU G ET AL: "EXTRACELLULAR EXPORT OF SHIGA TOXIN B-SUBUNIT/HAEMOLYSIN A (C-TERMINUS) FUSION PROTEIN EXPRESSED IN SALMONELLA TYPHIMURIUM AROA-MUTANT AND STIMULATION OF B-SUBUNIT SPECIFIC ANTIBODY RESPONSES IN MICE" MICROBIAL PATHOGENESIS, ACADEMIC PRESS LIMITED, NEW YORK, NY, US, Bd. 13, Nr. 6, Dezember 1992 (1992-12), Seiten 465-476, XP000983124 ISSN: 0882-4010 das ganze Dokument -----	1-19