

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**(21)(22) Заявка: **2011125306/10**, **20.11.2009**

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
21.11.2008 DK PA200801638(43) Дата публикации заявки: **27.12.2012** Бюл. № **36**(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: **21.06.2011**(86) Заявка РСТ:
DK 2009/050310 (20.11.2009)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2010/057501 (27.05.2010)Адрес для переписки:
**109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент", И.С. Саломатиной**

(71) Заявитель(и):

ЮНИВЕРСИТИ ОФ КОПЕНГАГЕН (DK)

(72) Автор(ы):

**ХОЛЬСТ Петер Йоханнес (DK),
ТОМСЕН Аллан Рандруп (DK),
КРИСТЕНСЕН Ян Правсгорд (DK),
ГРУЙИК Мирьяна (SE)**(54) **ПРАЙМИРОВАНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА**

(57) Формула изобретения

1. Конструкция нуклеиновой кислоты, включающая последовательности,
кодирующие:а. по меньшей мере одну инвариантную цепь или ее вариант, функционально
связанную сб. по меньшей мере одним антигенным белком или пептидом либо антигенным
фрагментом такого белка или пептида,причем данная конструкция нуклеиновой кислоты используется для прайминга
противораковой вакцины и/или данная инвариантная цепь или ее вариант не содержит
первых 17 аминокислот и/или данная инвариантная цепь или ее вариант не содержит
аминокислотных остатков LRMK из области KEY и/или данная инвариантная цепь
содержит вариант области CLIP.2. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, в которой по меньшей мере одна
инвариантная цепь или ее вариант происходят из человека.3. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, в которой по меньшей мере один
участок, пептид или домен по меньшей мере одной инвариантной цепи добавлен к,
удален из или заменяет участок, пептид или домен по меньшей мере одной
инвариантной цепи, при этом предпочтительно:а. 1, 2, 3 или 4 из аминокислотных остатков LRMK области KEY по меньшей мере
одной инвариантной цепи заменены на другие аминокислотные остатки,

предпочтительно на аланин; и/или

б. остатки аминокислоты метионина в положениях 91 и 99 области CLIP по меньшей мере одной инвариантной цепи заменены на другие аминокислотные остатки, предпочтительно на аланин; и/или

с. 1, 2, 3 или 4 из аминокислотных остатков LRMK области KEY по меньшей мере одной инвариантной цепи подвергнуты делеции; и/или

д. первые 17 аминокислот по меньшей мере одной инвариантной цепи подвергнуты делеции ($\Delta 17H$).

4. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, в которой инвариантная цепь содержит остатки аминокислот №50-118, соединенные с доменом тримеризации из Другого белка.

5. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, в которой по меньшей мере одна инвариантная цепь или ее фрагменты вызывают зависимый от МНС-I и/или МНС-II иммунный ответ зависимым или независимым от Т-клеток $CD4^+$ образом.

6. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, в которой по меньшей мере один антигенный белок или пептид либо антигенный фрагмент такого белка или пептида выбран из группы патогенных организмов, онкоспецифичных полипептидов и белков или пептидов, связанных с аномальной физиологической реакцией, причем:

а. данный патогенный организм предпочтительно выбран из группы вирусов, микроорганизмов и паразитов;

б. данный белок или пептид предпочтительно происходит из микроорганизма, более предпочтительно патогена человека;

с. данный онкоспецифичный полипептид предпочтительно выбран из группы происходящих из вируса HPV онкогенов E5, E6, E7 и L1, сурвивина, BCL-XL, MCL-1 и Rho-C; и/или

д. данный антигенный пептид или белок по меньшей мере на 85% идентичен любому из антигенов а.-с.

7. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, в которой функциональный линкер между инвариантной цепью или ее вариантом и антигенным белком или пептидом либо антигенным фрагментом такого белка или пептида выбран из группы, состоящей из непосредственной связи или связи, опосредованной разделительным участком (спейсером), причем:

а. функциональный линкер предпочтительно представляет собой разделительный участок (спейсер);

б. разделительный участок предпочтительно кодирует по меньшей мере один вспомогательный эпитоп для молекул МНС класса II; или

с. разделительный участок предпочтительно кодирует по меньшей мере один сайт расщепления протеазой.

8. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, в которой по меньшей мере одна инвариантная цепь функционально связана с по меньшей мере двумя антигенными белками или пептидами либо антигенными фрагментами таких белков или пептидов.

9. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.1, в которой последовательности, кодирующей по меньшей мере одну инвариантную цепь или ее вариант, функционально связанный по меньшей мере с одним антигенным белком или пептидом либо антигенным фрагментом такого белка или пептида, предшествует промотор, позволяющий экспрессирование конструкции, причем промотор предпочтительно выбран из группы конститутивных промоторов, индуцибельных промоторов, специфичных к организму промоторов, тканеспецифичных промоторов, специфичных к типу клеток промоторов, промотора CMV, промотора SV40 и промотора RSV.

10. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из предыдущих пунктов, включающая гены, связанные с презентацией антигенов и/или межклеточным распространением, и/или гены, кодирующие адъювант.

11. Средство доставки, включающее конструкцию нуклеиновой кислоты по любому из предыдущих пунктов, которое выбрано из группы носителей на основе РНК, носителей/векторов на основе ДНК, липидных носителей, полимерных носителей и носителей из вирусной ДНК или РНК, и при этом, более предпочтительно,

- a. средством доставки является пегилированный вектор или носитель,
- b. липидный носитель представляет собой липосомы,
- c. полимерный носитель образован из катионного полимера-носителя ДНК, выбранного из группы, состоящей из полиэтиленimina (PEI), полиамидоаминовых и полипропиламиновых дендримеров, полиаллиламина, катионного декстрана, хитозана, катионных белков (полилизина, протамина и пистонов), катионных пептидов, полипептидов, липополисахаридов и полисахаридов,
- d. средством доставки являются микросферы из биоразлагаемого полимера, или
- e. средство доставки включает нанесение конструкции нуклеиновой кислоты на коллоидные частицы золота.

12. Способ введения конструкции нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-10 или средства доставки по п.11, в котором введение выбрано из группы, состоящей из инъекции, генной пушки, струйной инъекции, электропорации, ультразвукового и гидродинамического введения.

13. Клетки, содержащие конструкцию нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-10.

14. Химерный белок, включающий по меньшей мере одну инвариантную цепь или ее вариант, функционально связанный по меньшей мере с одним антигенным белком или пептидом и кодируемый последовательностью, определяемой конструкцией нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-10.

15. Композиция, включающая:

- a. нуклеиновую кислоту, кодирующую:
 - i. по меньшей мере одну инвариантную цепь или ее вариант, функционально связанную с
 - ii. по меньшей мере одним антигенным белком или пептидом либо антигенным фрагментом такого белка или пептида,
- предпочтительно конструкцию нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-10; или
- b. по меньшей мере один химерный белок по п.14;
- причем композиция предпочтительно включает адъювант.

16. Композиция по п.15, в которой нуклеиновая кислота предназначена для применения в качестве медикамента.

17. Набор, включающий:

- a. композицию, включающую конструкцию нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-10,
- b. медицинский инструмент или иное средство для введения композиции, причем набор предпочтительно включает второй активный ингредиент,
- c. инструкцию по применению набора,
- при этом вторым активным ингредиентом предпочтительно является подходящая вакцина.

18. Конструкция нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-10, используемая в качестве праймера для стимулирования иммунного ответа, тем самым усиливая действие вводимой после этого вакцины, а применение предпочтительно включает стадии:

- a. получения конструкции нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-10 или

композиции по п.15 или 16;

б. прайминга иммунной системы субъекта путем введения конструкции нуклеиновой кислоты или композиции из стадии а), тем самым стимулируя иммунный ответ у данного субъекта; и

с. бустинга иммунного ответа из стадии б) путем введения подходящей вакцины; причем по меньшей мере часть конструкции нуклеиновой кислоты, используемой для прайминга иммунного ответа, и вакцины, используемой для бустинга данного иммунного ответа, являются идентичными, и при этом идентичной частью является часть антигенного пептида или белка и/или идентичной частью предпочтительно является распространенный эпитоп хелперных Т-клеток.

19. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.18, где иммунный ответ является:

- а. зависимым от МНС-I,
- б. зависимым от МНС-II,
- с. зависимым от МНС-I и МНС-II,
- д. зависимым от Т-клеток,
- е. зависимым от Т-клеток CD4⁺,
- ф. независимым от Т-клеток CD4⁺, или
- г. зависимым от Т-клеток CD8⁺.

20. Конструкция нуклеиновой кислоты по п.18 или 19, которая вводится в область, которая скорее всего будет местом данной инфекции.

21. Композиция по п.15 или 16, используемая в качестве праймера для стимулирования иммунного ответа, тем самым усиливая действие вводимой после этого вакцины, а применение предпочтительно включает стадии:

а. получения конструкции нуклеиновой кислоты по любому из пп.1-10 или композиции по п.15 или 16;

б. прайминга иммунной системы субъекта путем введения конструкции нуклеиновой кислоты или композиции из стадии а), тем самым стимулируя иммунный ответ у данного субъекта; и

с. бустинга иммунного ответа из стадии б) путем введения подходящей вакцины; причем по меньшей мере часть конструкции нуклеиновой кислоты, используемой для прайминга иммунного ответа, и вакцины, используемой для бустинга данного иммунного ответа, являются идентичными, и при этом идентичной частью является часть антигенного пептида или белка и/или идентичной частью предпочтительно является распространенный эпитоп хелперных Т-клеток.

22. Композиция по п.21, где иммунный ответ является:

- а. зависимым от МНС-I,
- б. зависимым от МНС-II,
- с. зависимым от МНС-I и МНС-II,
- д. зависимым от Т-клеток,
- е. зависимым от Т-клеток CD4⁺,
- ф. независимым от Т-клеток CD4⁺, или
- г. зависимым от Т-клеток CD8⁺.

23. Композиция по п.21 или 22, которая вводится в область, которая скорее всего будет местом данной инфекции.