



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2016145464, 14.04.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
24.04.2014 US 61/983,732

(43) Дата публикации заявки: 24.05.2018 Бюл. № 15

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 24.11.2016(86) Заявка РСТ:  
US 2015/025690 (14.04.2015)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2015/164121 (29.10.2015)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,  
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Карпенко  
Оксана Юрьевна

(71) Заявитель(и):

**АДВАКСИС, ИНК. (US)**

(72) Автор(ы):

**ВАЛЛЕЧА Ану (US),****ПЕТИТ Роберт (US)**(54) **РЕКОМБИНАНТНЫЕ ВАКЦИННЫЕ ШТАММЫ LISTERIA И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ**

## (57) Формула изобретения

1. Рекомбинантный штамм *Listeria*, при этом указанный рекомбинантный штамм *Listeria* содержит рекомбинантную нуклеиновую кислоту, указанная нуклеиновая кислота содержит первую открытую рамку считывания, кодирующую рекомбинантный полипептид, содержащий N-терминальный фрагмент белка LLO, слитый с гетерологичным антигеном или его фрагментом, и где указанная рекомбинантная нуклеиновая кислота дополнительно содержит вторую открытую рамку считывания, кодирующую мутантный белок PrfA.

2. Рекомбинантный штамм *Listeria* по п. 1, где указанная *Listeria* характеризуется делецией, инактивацией или мутацией в гене *prfA*.

3. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 1 и 2, где указанный мутантный белок PrfA содержит мутацию D133V.

4. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 2 и 3, где указанный мутантный белок PrfA, кодируемый указанной второй открытой рамкой считывания, комплементирует указанную геномную мутацию, делецию или инактивацию *prfA* в указанном штамме *Listeria* или частично восстанавливает функцию PrfA у указанного штамма *Listeria*.

5. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 1-4, где указанный гетерологичный антиген представляет собой E7 папилломавируса человека (HPV-E7) или HPV-E6.

6. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 1-5, где указанный N-терминальный фрагмент белка LLO выбран из последовательности, содержащей SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 4.
7. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 1-6, где указанный рекомбинантный штамм *Listeria* представляет собой рекомбинантный штамм *Listeria monocytogenes*.
8. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 1-7, где указанный рекомбинантный штамм *Listeria* был подвергнут пассированию через животное-хозяина перед стадией введения.
9. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 1-8, где указанный рекомбинантный полипептид экспрессируется указанным рекомбинантным штаммом *Listeria*.
10. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 1-9, где указанный рекомбинантный штамм *Listeria* содержит плазмиду, которая содержит указанную рекомбинантную нуклеиновую кислоту.
11. Рекомбинантный штамм *Listeria* по любому из пп. 1-10, где указанная плазмида содержит ген, кодирующий метаболический фермент.
12. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантную *Listeria* по любому из пп. 1-11.
13. Способ индукции иммунного ответа против опухоли или рака у субъекта-человека, при этом способ включает стадию введения указанному субъекту рекомбинантного штамма *Listeria*, содержащего рекомбинантную нуклеиновую кислоту, при этом указанная нуклеиновая кислота содержит первую открытую рамку считывания, кодирующую рекомбинантный полипептид, содержащий N-терминальный фрагмент белка LLO, слитый с гетерологичным антигеном или его фрагментом, где указанная рекомбинантная нуклеиновая кислота дополнительно содержит вторую открытую рамку считывания, кодирующую мутантный белок PrfA, с индукцией тем самым иммунного ответа против опухоли или рака.
14. Способ по п. 13, где указанная *Listeria* характеризуется делецией, инактивацией или мутацией в гене *prfA*.
15. Способ по любому из пп. 13 и 14, где указанный мутантный белок PrfA содержит мутацию D133V.
16. Способ по любому из пп. 14 и 15, где указанный мутантный белок PrfA, кодируемый указанной второй открытой рамкой считывания, комплементирует геномную мутацию, делецию или инактивацию *prfA* в указанном штамме *Listeria* или частично восстанавливает функцию PrfA у указанного штамма *Listeria*.
17. Способ по любому из пп. 14-16, где указанное введение представляет собой внутривенное или пероральное введение.
18. Способ по любому из пп. 14-17, где указанный гетерологичный антиген представляет собой E7 папилломавируса человека (HPV-E7) или HPV-E6.
19. Способ по любому из пп. 14-18, где указанный N-терминальный фрагмент белка LLO выбран из последовательности, содержащей SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 4.
20. Способ по любому из пп. 14-18, где указанный рекомбинантный штамм *Listeria* вводят указанному субъекту-человеку в дозе  $1 \times 10^9$ - $3,31 \times 10^{10}$  организмов.
21. Способ по п. 20, где указанный рекомбинантный штамм *Listeria* хранят в замороженном или лиофилизированном состоянии до введения.
22. Способ по любому из пп. 14-20, где указанный рекомбинантный штамм *Listeria* представляет собой рекомбинантный штамм *Listeria monocytogenes*.
23. Способ по любому из пп. 14-21, где указанный рекомбинантный штамм *Listeria* был подвергнут пассированию через животное-хозяина перед стадией введения.

24. Способ по любому из пп. 14-23, где указанный рекомбинантный полипептид экспрессируется указанным рекомбинантным штаммом *Listeria*.

25. Способ по любому из пп. 14-24, где указанный рекомбинантный штамм *Listeria* содержит плазмиду, которая кодирует указанный рекомбинантный полипептид.

26. Способ по любому из пп. 14-25, где указанная плазида содержит ген, кодирующий метаболический фермент.

27. Способ по любому из пп. 14-26, дополнительно включающий стадию бустерного введения указанному субъекту-человеку указанного рекомбинантного штамма *Listeria*.

28. Способ по любому из пп. 14-27, дополнительно включающий стадию инокуляции указанному субъекту-человеку иммуногенной композиции, которая содержит антиген E7 или управляет его экспрессией.

29. Способ по любому из пп. 14-28, где указанный иммунный ответ представляет собой противоопухолевый цитотоксический Т-клеточный иммунный ответ.

30. Способ по любому из пп. 14-29, где указанный способ обеспечивает возможность защиты субъекта от опухоли или рака.

31. Способ по любому из пп. 14-29, где указанный способ обеспечивает возможность лечения субъекта от опухоли или рака.

32. Способ по любому из пп. 30-31, где указанный рак представляет собой рак шейки матки, рак головы и шеи (HNS) или анальный рак.

A  
4  
9  
4  
5  
4  
6  
4  
2  
0  
1  
6  
1  
4  
5  
4  
6  
4  
A  
R  
U

R  
U  
2  
0  
1  
6  
1  
4  
5  
4  
6  
4  
A