

## (12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 47119 B1**
- (43) Date de publication : **30.09.2021**
- (51) Cl. internationale : **A61P 35/00; C07K 14/195; C12N 15/74; C07K 14/52; C12N 15/70; C07K 14/24**
- 
- (21) N° Dépôt : **47119**
- (22) Date de Dépôt : **20.12.2017**
- (30) Données de Priorité : **20.12.2016 EP 16205439**
- (86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/EP2017/083853 20.12.2017**
- (71) Demandeur(s) : **Universität Basel, Petersgraben 35 4001 Basel (CH)**
- (72) Inventeur(s) : **ITTIG, Simon ; AMSTUTZ, Marlise ; KASPER, Christoph**
- (74) Mandataire : **TOUNINA CONSULTING**
- (86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation: **17837961.6**
- 
- (54) Titre : **ADMINISTRATION DE PROTÉINE À BASE DE BACTÉRIES À VIRULENCE ATTÉNUÉE**
- (57) Abrégé : L'invention se rapporte à des souches bactériennes Gram négatif à virulence atténuée de recombinaison et à leur utilisation dans une méthode de traitement d'un cancer chez un sujet.

## Revendications

1. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée choisie dans le groupe constitué par les genres *Yersinia*, *Escherichia*, *Salmonella* et *Pseudomonas*, qui comprend une molécule nucléotidique comprenant une séquence nucléotidique codant pour une protéine hétérologue fusionnée dans le cadre avec l'extrémité 3' d'une séquence nucléotidique codant pour un signal de libération provenant d'une protéine effectrice bactérienne, dans laquelle le signal de libération provenant d'une protéine effectrice bactérienne est une protéine effectrice T3SS bactérienne de la souche bactérienne Gram négatif comprenant une protéine effectrice T3SS bactérienne ou un fragment N-terminal de celle-ci comprenant un site de liaison à une protéine chaperon, dans laquelle la séquence nucléotidique codant pour le signal de libération provenant d'une protéine effectrice bactérienne est liée, de manière opérationnelle, à un promoteur, et dans laquelle la protéine hétérologue est une protéine impliquée dans une induction ou une régulation d'une réponse par IFN de type I choisie dans le groupe constitué par la famille des récepteurs du type RIG I (RLR), d'autres protéines contenant un domaine CARD impliquées dans une signalisation antivirale et l'induction d'IFN de type I, et des enzymes générant des dinucléotides cycliques telles que des cyclases à di-AMP cyclique, à di-GMP cyclique et à di-GAMP cyclique choisies dans le groupe constitué par

les WspR, DncV, DisA et du type DisA, CdaA, CdaS et cGAS, conduisant à une stimulation de STING.

2. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de la revendication 1, dans laquelle la protéine impliquée dans l'induction ou la régulation d'une réponse par IFN de type I est choisie dans le groupe constitué par les RIG1, MDA5, MAVS/IPS-1, WspR, DncV, DisA et du type DisA, CdaA et cGAS ou un fragment de ceux-ci.

3. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de l'une quelconque des revendications 1 à 2, la souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée comprenant en outre une délétion d'un gène chromosomique codant pour une protéine endogène essentielle pour la croissance et un plasmide à virulence endogène, qui comprend une séquence nucléotidique comprenant un gène codant pour ladite protéine endogène essentielle pour la croissance lié, de manière opérationnelle, à un promoteur.

4. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de la revendication 3, ladite souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée étant défectueuse pour la production d'au moins une protéine effectrice bactérienne.

5. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée des revendications 3 ou 4, dans laquelle le gène codant pour une protéine endogène essentielle pour la croissance est choisi parmi un gène codant pour une enzyme essentielle pour la production d'acides aminés, un gène codant pour une enzyme impliquée dans la biosynthèse de peptidoglycanes, un gène codant pour une enzyme impliquée dans la biosynthèse de LPS, un gène codant pour une enzyme

impliquée dans la synthèse de nucléotides et un gène codant pour un facteur d'initiation de la traduction.

5 6. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de l'une quelconque des revendications 3 à 5, dans laquelle le gène codant pour une enzyme endogène essentielle pour la croissance est un gène codant pour une enzyme essentielle pour la production d'acides aminés, dans laquelle l'enzyme  
10 essentielle pour la production d'acides aminés est l'aspartate-bêta-semialdéhyde déshydrogénase (asd).

15 7. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de l'une quelconque des revendications 1 à 6, la souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée étant une souche de *Yersinia*.

20 8. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de l'une quelconque des revendications 3 à 7, dans laquelle le gène codant pour une enzyme endogène essentielle pour la croissance, situé sur le plasmide à virulence endogène, comprend son promoteur endogène et son terminateur endogène de  
25 la transcription.

30 9. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de la revendication 8, dans laquelle le gène codant pour l'enzyme endogène essentielle pour la croissance, son promoteur endogène et son terminateur endogène de la transcription sont situés à 122 pb en amont du début de l'orf155 (SycO) sur le plasmide à virulence endogène.

35 10. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de l'une quelconque des revendications 1 à 9, la souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée comprenant en outre une modulation au sein d'une région

thermocapteur à ARN en amont d'un gène codant pour une protéine de liaison à l'ADN du type AraC endogène choisie dans le groupe constitué par les VirF, LcrF, YbtA, Rns, MxiE, AraC, XylS, ExsA, PerA, MmsR, RhaS, 5 TcpN, HrpX, HrpB, GadX, HilC, Hild, MarA, CafR, FapR et InvF.

11. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de la revendication 10, dans 10 laquelle la modulation au sein d'une région thermocapteur à ARN en amont d'un gène codant pour une protéine de liaison à l'ADN du type AraC endogène comprend une délétion qui ôte une structure d'ARN en épingle à cheveu ou des parties de celle-ci en amont 15 d'un gène codant pour une protéine de liaison à l'ADN du type AraC endogène.

12. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de l'une quelconque des 20 revendications 10 à 11, dans laquelle la protéine de liaison à l'ADN du type AraC est virF.

13. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de l'une quelconque des 25 revendications 1 à 12, la souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée étant *Yersinia enterocolitica*.

14. Souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée de l'une quelconque des 30 revendications 1 à 13, destinée à être utilisée dans un procédé de traitement d'un cancer chez un sujet, le procédé comprenant une administration au sujet de ladite souche bactérienne recombinante Gram négatif à 35 virulence atténuée, la souche bactérienne recombinante Gram négatif à virulence atténuée étant administrée en une quantité qui est suffisante pour traiter le sujet.