

RU 2015105052 A

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU⁽¹¹⁾ 2015 105 052⁽¹³⁾ A

(51) МПК
C12N 15/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2015105052, 02.08.2013

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
03.08.2012 US 61/679,306

(43) Дата публикации заявки: 27.09.2016 Бюл. № 27

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 03.03.2015

(86) Заявка РСТ:
US 2013/053493 (02.08.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2014/022811 (06.02.2014)

Адрес для переписки:
191186, Санкт-Петербург, а/я 230, В.В.
Дощечкиной

(71) Заявитель(и):
СЕДАРС-СИНАЙ МЕДИКАЛ ЦЕНТР
(US)

(72) Автор(ы):
МЕДИНА-КАУВЕ Лали К. (US)

(54) Выделение мутантов белка доставки лекарственного средства, усиливающих направленную миграцию

(57) Формула изобретения

1. Способ усиления направленной миграции в клетку, включающий следующие стадии:

обеспечение композиции, содержащей белок основания пентона (PB), несущий одну или более мутаций, усиливающих проникновение в клетку; и
введение эффективной дозы этой композиции в клетку.

2. Способ по п. 1, где одна или более чем одна мутация представляет собой 111C и/или 333F.

3. Способ по п. 1, где композиция направлена на цитоплазму и/или ядро клетки.

4. Способ по п. 1, где композиция дополнительно содержит терапевтическое лекарственное средство.

5. Способ по п. 1, где клетка представляет собой опухолевую клетку.

6. Способ по п. 1, где одна или более чем одна мутация представляет собой SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 20.

7. Способ получения молекулы доставки лекарственного средства, направленной на органеллу, включающий следующие стадии:

а) получение полинуклеотида, кодирующего ген основания пентона (PB), и создание

RU 2015105052 A

мутантов этого полинуклеотида;

б) клонирование мутантного полинуклеотида в фаговом векторе и создание фаговой библиотеки, содержащий фаговые векторы;

в) трансформацию клеток фаговой библиотекой;

г) фракционирование трансформированных клеток и сбор органеллы из трансформированных клеток;

д) амплификацию фагов из собранных органелл;

е) трансформацию клеток амплифицированными фагами из собранных органелл;

ж) повторение стадий (д), (е), (ф) и (г);

з) титрование фагов из собранных органелл из каждого раунда;

и) отбор фагов с самым высоким титром и получение последовательностей мутантного полинуклеотида из фага; и

ж) получение полипептидов, кодируемых этими последовательностями,

где полипептиды представляют собой молекулы доставки лекарственного средства, направленные на органеллы.

8. Способ по п. 7, где органеллу выбирают из группы, состоящей из митохондрии, аппарата Гольджи, эндоплазматического ретикулума, ядра, рибосом, плазматической мембранны и цитозоля.

9. Способ по п. 7, где клетки представляют собой клетки млекопитающих или клетки, отличающиеся от клеток млекопитающих.

10. Способ по п. 7, где мутантов получают, используя любой один или более из следующих способов: способов на основе ПЦР, химического мутагенеза, мутагенеза, индуцированного ультрафиолетовым излучением, или их комбинацию.

11. Способ по п. 7, где молекула доставки лекарственного средства включает направляющий домен, эндосомолитический лигандный домен и положительно заряженный домен.

12. Носитель для доставки терапевтического средства в органеллу, содержащий полипептид, кодируемый одной или более мутацией основания пентона (PB), усиливающей проникновение в клетку.

13. Носитель по п. 12, где одна или более чем одна мутация основания пентона (PB) включает 111C и/или 333F.

14. Носитель по п. 12, дополнительно содержащий полилизиновый мотив.

15. Носитель по п. 12, дополнительно содержащий направляющий домен херегулина.

16. Носитель по п. 12, где одна или более чем одна мутация PB включает С-концевую делецию.

17. Терапевтическое средство, содержащее носитель по п. 12 и терапевтическое лекарственное средство.

18. Терапевтическое средство по п. 17, где терапевтическое лекарственное средство представляет собой химиотерапевтическое средство.

19. Способ получения носителя, не обладающего пролиферативной активностью, включающий следующие стадии:

а) получение полинуклеотида, кодирующего рецептор-связывающий домен херегулина (Her), и создание мутантов этого полинуклеотида;

б) клонирование мутантных полинуклеотидов Her в фаговых векторах и создание фаговой библиотеки, содержащей фаговые векторы;

в) трансформацию клеток MDA-MB-435 фаговой библиотекой в присутствии митотических ингибиторов;

г) фракционирование трансформированной клетки и экстракцию мембранный фракции клеток MDA-MB-435;

д) сбор мембранных фагов из мембранный фракции;

- f) трансформацию мембранных фагов в клетки MDA-MB-435 в присутствии митотических ингибиторов;
 - g) повторение стадий (d), (e) и (f);
 - h) мониторинг пролиферации клеток MDA-MB-435 в каждом раунде и отбор мембранных фагов при самой низкой пролиферации клеток MDA-MB-435;
 - i) получение последовательностей мутантов полинуклеотида Her в отобранных мембранных фагах; и
 - j) получение полипептидов, кодируемых последовательностями Her и геном основания пентона, где полипептиды представляют собой носитель, не обладающий пролиферативной активностью.
20. Носитель для доставки терапевтических средств в ядро, содержащий полипептид, кодируемый мутантными последовательностями Her, как определено в п. 19.
21. Носитель по п. 20, дополнительно содержащий полипептид, кодирующий белок основания пентона (PB), и полилизиновый мотив.
22. Носитель по п. 20, где белок PB представляет собой мутантный белок основания пентона.
23. Терапевтическое средство, содержащее носитель по п. 20 и терапевтическое лекарственное средство.
24. Терапевтическое средство по п. 23, где терапевтическое лекарственное средство представляет собой химиотерапевтическое средство.