



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2022103665, 21.10.2016

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

23.10.2015 US 62/245,944;

07.03.2016 US 62/304,918;

03.06.2016 US 62/345,649;

01.08.2016 US 62/369,694

(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:

2018118652 22.05.2018

(43) Дата публикации заявки: 05.03.2022 Бюл. № 7

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,

ООО "Юридическая фирма Городиский и

Партнеры"

(71) Заявитель(и):

ЕУРЕКА ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

ЛУ, Цзинвэй (US),

ЯН, Чжюань (US),

ЛЮ, Чэн (US),

ЛЮ, Хун (US),

СЮЙ, Иян (US),

ЯНЬ, Су (US),

ЧАНЬ, Вивьен Вай-фань (US),

ХОРАН, Лукас (US)

(54) **ХИМЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ АНТИТЕЛОТ-КЛЕТОЧНЫЙ РЕЦЕПТОР И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(57) Формула изобретения

1. Химерная молекула (abTCR) антитело-Т-клеточный рецептор (TCR), специфически связывающая антиген-мишень, содержащая

а) первую полипептидную цепь, содержащую первый антигенсвязывающий домен, содержащий домен V_H антитела, первый пептидный линкер и первый домен Т-клеточного рецептора (TCRD), содержащий первый трансмембранный домен первой субъединицы TCR; и

б) вторую полипептидную цепь, содержащую второй антигенсвязывающий домен, содержащий домены V_L антитела, второй пептидный линкер и второй TCRD, содержащий второй трансмембранный домен второй субъединицы TCR,

где домен V_H первого антигенсвязывающего домена и домен V_L второго антигенсвязывающего домена формируют антигенсвязывающий модуль, специфически связывающий антиген-мишень,

где первый и/или второй пептидные линкеры содержат, индивидуально, константный домен или его фрагмент из субъединицы иммуноглобулина; и

где первый TCRD и второй TCRD формируют модуль TCR (TCRM), способный привлекать по меньшей мере один ассоциированный с TCR передающий сигналы модуль.

2. abTCR по п.1, где первый и/или второй пептидные линкеры содержат, индивидуально, домен CH1, CH2, CH3, CH4 или C_L антитела, или его фрагмент.

3. abTCR по п.2, где первый пептидный линкер содержит домен CH1 антитела или

его фрагмент, и второй пептидный линкер содержит домен СL антитела или его фрагмент.

4. abTCR по п. 2 или 3, где домен СН1 антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39, и домен СL антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

5. abTCR по п. 1 или 2, где

а) первый пептидный линкер содержит домен СН1 антитела или его фрагмент, и второй пептидный линкер содержит домен СН2 антитела или его фрагмент;

б) первый пептидный линкер содержит домен СН3 антитела или его фрагмент, и второй пептидный линкер содержит домен СН3 антитела или его фрагмент; или

с) первый пептидный линкер содержит домен СН4 антитела или его фрагмент, и второй пептидный линкер содержит домен СН4 антитела или его фрагмент.

6. abTCR по любому из пп. 1-5, где

а) первый TCRD дополнительно содержит первый соединительный пептид или его фрагмент из субъединицы TCR с N-конца от первого трансмембранного домена; и/или

б) второй TCRD дополнительно содержит второй соединительный пептид или его фрагмент из субъединицы TCR с N-конца от второго трансмембранного домена.

7. abTCR по п.6, где TCRM содержит дисульфидную связь между остатком в первом соединительном пептиде и остатком во втором соединительном пептиде.

8. abTCR по любому из пп. 1-7, где

а) первый TCRD дополнительно содержит первый внутриклеточный домен TCR, содержащий внутриклеточную последовательность TCR с С-конца от первого трансмембранного домена; и/или

б) второй TCRD дополнительно содержит второй внутриклеточный домен TCR, содержащий а внутриклеточную последовательность TCR с С-конца от второго трансмембранного домена.

9. abTCR по любому из пп. 1-8, где

а) первая полипептидная цепь дополнительно содержит первый сигнальный пептид с N-конца от первого антигенсвязывающего домена; и/или

б) вторая полипептидная цепь дополнительно содержит второй сигнальный пептид с N-конца от второго антигенсвязывающего домена.

10. abTCR по любому из пп. 1-9, где антиген-мишень представляет собой антиген клеточной поверхности.

11. abTCR по п.9 или 10, где антиген клеточной поверхности представляет собой CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D или FCRL5.

12. abTCR по любому из пп. 1-9, где антиген-мишень представляет собой комплекс (комплекс антигена-мишени), содержащий пептид и белок главного комплекса гистосовместимости (МНС).

13. abTCR по п. 12, где пептид в комплексе антигена-мишени происходит из белка, выбранного из группы, состоящей из WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1 и PSA.

14. abTCR по любому из пп. 1-13, где abTCR связывает антиген-мишень с равновесной константой диссоциации (K_d) от приблизительно 0,1 пМ до приблизительно 500 нМ.

15. abTCR по любому из пп. 1-14, где ассоциированный с TCR передающий сигналы модуль выбран из группы, состоящей из CD3 $\delta\epsilon$, CD3 $\gamma\epsilon$ и $\zeta\zeta$.

16. abTCR по любому из пп. 1-15, где

а) первая субъединица TCR представляет собой цепь α TCR, и вторая субъединица TCR представляет собой цепь β TCR;

б) первая субъединица TCR представляет собой цепь β TCR, и вторая субъединица TCR представляет собой цепь α TCR;

с) первая субъединица TCR представляет собой цепь γ TCR, и вторая субъединица TCR представляет собой цепь δ TCR;

d) первая субъединица TCR представляет собой цепь δ TCR, и вторая субъединица TCR представляет собой цепь γ TCR.

17. abTCR по любому из пп. 1-16, где

a) первый TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 и второй TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, или первый TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 и второй TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

b) первый TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 и второй TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, или первый TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 и второй TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17;

с) первый TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 и второй TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, или первый TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 и второй TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; или

d) первый TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 и второй TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, или первый TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 и второй TCRD содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21.

18. Нуклеиновая кислота, кодирующая первую и вторую полипептидные цепи abTCR по любому из пп. 1-17.

19. Комплекс abTCR, где комплекс abTCR содержит abTCR по любому из пп. 1-17 и по меньшей мере один ассоциированный с TCR передающий сигналы модуль, выбранный из группы, состоящей из CD3 $\delta\epsilon$, CD3 $\gamma\epsilon$ и $\zeta\zeta$.

20. Комплекс abTCR по п.19, где комплекс abTCR представляет собой октамер, содержащий abTCR и CD3 $\delta\epsilon$, CD3 $\gamma\epsilon$ и $\zeta\zeta$.

21. Эффекторная клетка для уничтожения клетки-мишени, где эффекторная клетка содержит abTCR по любому из пп. 1-17, выделенную нуклеиновую кислоту по п. 18, комплекс abTCR по п.19 или 20.

22. Эффекторная клетка по п.21, где эффекторная клетка не экспрессирует первую субъединицу TCR и/или вторую субъединицу TCR.

23. Эффекторная клетка по п.22, где

i) а) первая субъединица TCR представляет собой TCR α , и вторая субъединица TCR представляет собой TCR β ; или

b) первая субъединица TCR представляет собой TCR β , и вторая субъединица TCR представляет собой TCR α ; и где эффекторная клетка представляет собой $\gamma\delta$ T-клетку, или

ii) а) первая субъединица TCR представляет собой TCR γ , и вторая субъединица TCR представляет собой TCR δ ; или

b) первая субъединица TCR представляет собой TCR δ , и вторая субъединица TCR представляет собой TCR γ ; и

где эффекторная клетка представляет собой $\alpha\beta$ T-клетку.

24. Эффекторная клетка по любому из пп. 21-23, где эффекторную клетку модифицируют для блокирования или уменьшения экспрессии первой субъединицы эндогенного TCR и/или второй субъединицы эндогенного TCR.

25. Эффекторная клетка по п. 24, где

i) а) первая субъединица эндогенного TCR представляет собой TCR α , и вторая субъединица эндогенного TCR представляет собой TCR β ; или

б) первая субъединица эндогенного TCR представляет собой TCR β , и вторая субъединица эндогенного TCR представляет собой TCR α ; и

где эффекторная клетка представляет собой $\alpha\beta$ Т-клетку, модифицированную для блокирования или уменьшения экспрессии TCR α и/или TCR β ; или

ii) а) первая субъединица эндогенного TCR представляет собой TCR γ , и вторая субъединица эндогенного TCR представляет собой TCR δ ; или

б) первая субъединица эндогенного TCR представляет собой TCR δ , и вторая субъединица эндогенного TCR представляет собой TCR γ ; и

где эффекторная клетка представляет собой $\gamma\delta$ Т-клетку, модифицированную для блокирования или уменьшения экспрессии TCR γ и/или TCR δ .

26. Эффекторная клетка по любому из пп. 21-25, где эффекторная клетка представляет собой CD3⁺ клетку.

27. Эффекторная клетка по п.26, где CD3⁺ клетка выбрана из группы, состоящей из цитотоксической Т-клетки, Т-клетки-помощника, Т-клетки - естественного киллера и супрессорной Т-клетки.

28. Способ уничтожения клетки-мишени, представляющей антиген-мишень на своей поверхности, включающий приведение клетки-мишени в контакт с эффекторной клеткой по любому из пп. 21-27, где abTCR специфически связывает антиген-мишень.

29. Фармацевтическая композиция, содержащая abTCR по любому из пп. 1-17, одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих первую и вторую полипептидные цепи abTCR по любому из пп.1-17, выделенную нуклеиновую кислоту по п. 18 или эффекторную клетку по любому из пп. 21-27 и фармацевтически приемлемый носитель.

30. Способ лечения ассоциированного с антигеном-мишенью заболевания у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества эффекторной клетки по любому из пп. 21-27 или фармацевтической композиции по п.29.

31. Способ по п. 30, где ассоциированное с антигеном-мишенью заболевание представляет собой злокачественную опухоль.

32. Способ по п.31, где злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из аденокарциномы, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака шейки матки, холангиокарциномы, колоректального рака, рака пищевода, глиобластомы, глиомы, печеночно-клеточной карциномы, рака головы и шеи, рака почки, лейкоза, лимфомы, рака легкого, меланомы, мезотелиомы, множественной миеломы, рака поджелудочной железы, феохромоцитомы, плазмацитомы, нейробластомы, рака яичника, рака предстательной железы, саркомы, рака желудка, рака тела матки и рака щитовидной железы.

33. Способ по любому из п. 30, где ассоциированное с антигеном-мишенью заболевание представляет собой вирусную инфекцию.

34. Способ по п.33, где вирусная инфекция вызвана вирусом, выбранным из группы, состоящей из цитомегаловируса (CMV), вируса Эпштейна-Барр (EBV), вируса гепатита В (HBV), ассоциированного с саркомой Капоши вируса герпеса (KSHV), вируса папилломы человека (HPV), вируса контагиозного моллюска (MCV), вируса 1 Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1), HIV (вируса иммунодефицита человека) и вируса гепатита С (HCV).