РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2012 143 519** (13) **A**

(51) МПК
C07K 16/28 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: **2012143519/10, 01.04.2011**

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
01.04.2010 US 61/320,052

(43) Дата публикации заявки: **10.05.2014** Бюл. № **13**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **01.11.2012**

(86) Заявка PCT:
EP 2011/055104 (01.04.2011)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2011/121110 (06.10.2011)

Адрес для переписки:
191036, Санкт-Петербург, а/я 24, "НЕВИНПАТ"

(71) Заявитель(и):
Эмджин Рисеч (Мюних) ГмбХ (DE)

(72) Автор(ы):
КУФЕР Петер (DE),
РАУМ Тобиас (DE),
КИШЕЛЬ Роман (DE),
ЛУТТЕРБЮЗЕ Ральф (DE),
ГОФМАН Патрик (DE),
РАУ Дорис (DE),
МАНГОЛЬД Сузанне (DE),
КЛИНГЕР Маттиас (DE),
ШАЛЛЕР Эвелине (DE),
ХАУСМАН Сузанне (DE),
ФЛУР Петра (DE),
ШТАЙГЕР Карола (DE)

(54) БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ ОДНОЦЕПОЧЕЧНОЕ АНТИТЕЛО К PSMAxCD3 С МЕЖВИДОВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ

(57) Формула изобретения

1. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела, содержащая первый связывающий домен, который представляет собой сайт взаимодействия с антигеном, способный связываться с эпитопом CD3ε (эпсилон-цепи человека и обыкновенной игрунки (Callithrix jacchus), эдипова тамарина (Saguinis oedipus) или обыкновенной беличьей обезьяны (Saimiri sciureus), где указанный эпитоп представляет собой часть аминокислотной последовательности, входящей в группу, состоящую из SEQ ID NO:2, 4, 6 или 8, и содержит по меньшей мере аминокислотную последовательность Gln-Asp-Gly-Asn-Glu (QDGNE), и второй связывающий домен, способный связываться со специфическим мембранным антигеном предстательной железы (PSMA).

2. Полипептид по п.1, где эпитоп представляет собой часть аминокислотной последовательности, входящей в группу, состоящую из SEQ ID NO:2, 4, 6 и 8, и содержит по меньшей мере аминокислотную последовательность Gln-Asp-Gly-Asn-Glu.

3. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где по меньшей мере один из указанного первого или второго связывающего домена является CDR-привитым, гуманизированным или человеческим.

4. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и примата, не являющегося шимпанзе, содержит VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранную из:

RU 2012143519 A

RU 2012143519 A

(а) CDR-L1, как представлено в SEQ ID NO:27, CDR-L2, как представлено в SEQ ID NO:28, и CDR-L3, как представлено в SEQ ID NO:29;

(б) CDR-L1, как представлено в SEQ ID NO:117, CDR-L2, как представлено в SEQ ID NO:118, и CDR-L3, как представлено в SEQ ID NO:119; и

(в) CDR-L1, как представлено в SEQ ID NO:153, CDR-L2, как представлено в SEQ ID NO:154, и CDR-L3, как представлено в SEQ ID NO:155.

5. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и примата, не являющегося шимпанзе, содержит VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранную из:

(а) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:12, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:13, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:14;

(б) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:30, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:31, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:32;

(в) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:48, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:49, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:50;

(г) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:66, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:67, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:68;

(д) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:84, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:85, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:86;

(е) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:102, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:103, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:104;

(ж) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:120, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:121, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:122;

(з) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:138, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:139, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:140;

(и) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:156, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:157, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:158; и

(к) CDR-H1, как представлено в SEQ ID NO:174, CDR-H2, как представлено в SEQ ID NO:175, и CDR-H3, как представлено в SEQ ID NO:176.

6. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и примата, не являющегося шимпанзе, содержит VL-область, выбранную из группы, состоящей из VL-области, как представлено в SEQ ID NO:35, 39, 125, 129, 161 или 165.

7. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и примата, не являющегося шимпанзе, содержит VH-область, выбранную из группы, состоящей из VH-области, как представлено в SEQ ID NO:15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 или 181.

8. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и примата, не являющегося шимпанзе, содержит VL-область и VH-область, выбранные из группы, состоящей из:

(а) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:17 или 21, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:15 или 19;

(б) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:35 или 39, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:33 или 37;

(в) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:53 или 57, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:51 или 55;

(г) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:71 или 75, и VH-область, как

RU 2012143519 A

RU 2012143519 A

представлено в SEQ ID NO:69 или 73;

(д) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:89 или 93, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:87 или 91;

(ж) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:107 или 111, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:105 или 109;

(з) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:125 или 129, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:123 или 127;

(и) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:143 или 147, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:141 или 145;

(к) VL-область, как представлено в SEQ ID NO; 161 или 165, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:159 или 163; и

(л) VL-область, как представлено в SEQ ID NO:179 или 183, и VH-область, как представлено в SEQ ID NO:177 или 181.

9. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.8, где первый связывающий домен, способный связываться с эпитопом CD3ε-цепи человека и примата, не являющегося шимпанзе, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187.

10. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.1, где второй связывающий домен способен связываться с PSMA человека и/или PSMA примата, не являющегося шимпанзе.

11. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.10, которая содержит группу следующих последовательностей, таких как CDR H1, CDR H2, CDR H3, CDR L1, CDR L2 и CDR L3, во втором связывающем домене, выбранную из:

а) CDR H1-3 из SEQ ID NO:226-228 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:231-233;

б) CDR H1-3 из SEQ ID NO:240-242 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:245-247;

в) CDR H1-3 из SEQ ID NO:254-256 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:259-261;

г) CDR H1-3 из SEQ ID NO:268-270 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:273-275;

д) CDR H1-3 из SEQ ID NO:618-620 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:623-625;

е) CDR H1-3 из SEQ ID NO:282-284 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:287-289;

ж) CDR H1-3 из SEQ ID NO:296-298 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:301-303;

з) CDR H1-3 из SEQ ID NO:310-312 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:315-317;

и) CDR H1-3 из SEQ ID NO:324-326 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:329-331;

к) CDR H1-3 из SEQ ID NO:338-340 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:343-345;

л) CDR H1-3 из SEQ ID NO:352-354 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:357-359;

м) CDR H1-3 из SEQ ID NO:366-368 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:371-373;

н) CDR H1-3 из SEQ ID NO:380-382 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:385-387;

о) CDR H1-3 из SEQ ID NO:394-396 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:399-401;

п) CDR H1-3 из SEQ ID NO:408-410 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:413-415;

р) CDR H1-3 из SEQ ID NO:422-424 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:427-429;

с) CDR H1-3 из SEQ ID NO:436-438 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:441-443;

т) CDR H1-3 из SEQ ID NO:450-452 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:455-457;

у) CDR H1-3 из SEQ ID NO:464-466 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:469-471;

ф) CDR H1-3 из SEQ ID NO:478-480 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:483-485;

х) CDR H1-3 из SEQ ID NO:492-494 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:497-499;

ц) CDR H1-3 из SEQ ID NO:506-508 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:511-513;

ч) CDR H1-3 из SEQ ID NO:520-522 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:525-527;

ш) CDR H1-3 из SEQ ID NO:534-536 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:539-541;

щ) CDR H1-3 из SEQ ID NO:548-550 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:553-555;

ы) CDR H1-3 из SEQ; ID NO:562-564 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:567-569;

RU 2012143519 A

RU 2012143519 A

э) CDR H1-3 из SEQ ID NO:576-578 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:581-583;

ю) CDR H1-3 из SEQ ID NO:590-592 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:595-597; и

я) CDR H1-3 из SEQ ID NO:604-606 и CDR L1-3 из SEQ ID NO:609-611.

12. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.11, где связывающие домены расположены в порядке VH PSMA-VL PSMA-VH CD3-VL CD3 или VL PSMA-VH PSMA-VH CD3-VL CD3.

13. Молекула биспецифического одноцепочечного антитела по п.12, которая содержит последовательность, выбранную из:

(а) аминокислотной последовательности, как представлено в любой из SEQ ID NO: 237, 251, 265, 279, 629, 293, 307, 321, 335, 349, 363, 377, 391, 405, 419, 433, 447, 461, 475, 489, 503, 517, 531, 545, 559, 573, 587, 601 или 615; и

(б) аминокислотной последовательности, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, как представлено в любой из SEQ ID NO:238, 252, 266, 280, 630, 294, 308, 322, 336, 350, 364, 378, 392, 406, 420, 434, 448, 462, 476, 490, 504, 518, 532, 546, 560, 574, 588, 602 или 616.

14. Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая молекулу биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-13.

15. Вектор, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты по п.14.

16. Вектор по п.15, дополнительно содержащий регуляторную последовательность, которая функциональным образом связана с указанной последовательностью нуклеиновой кислоты по п.14.

17. Вектор по п.16, представляющий собой экспрессирующий вектор.

18. Клетка-хозяин, трансформированная или трансфицированная вектором по любому из пп.15-17.

19. Способ получения молекулы биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-13, включающий культивирование клетки-хозяина по п.18 в условиях, обеспечивающих экспрессию молекулы биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-13, и выделение продуцируемого полипептида из культуры.

20. Фармацевтическая композиция, содержащая молекулу биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-13 или полученную способом по п.19.

21. Применение молекулы биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-13 или полученной способом по п.19, для изготовления фармацевтической композиции для предупреждения, лечения или облегчении заболевания.

22. Применение по п.21, где указанное заболевание представляет собой рак.

23. Применение по п.22, где указанный рак представляет собой солидную опухоль, предпочтительно карциному или рак предстательной железы.

24. Применение по пп.21, 22 или 23, где указанную фармацевтическую композицию вводят в комбинации с дополнительным лекарственным средством.

25. Набор, содержащий молекулу биспецифического одноцепочечного антитела по любому из пп.1-13, молекулу нуклеиновой кислоты по п.14, вектор по любому из пп.15-17 или клетку-хозяина по п.18.

RU 2012143519 A

RU 2012143519 A