

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**(21)(22) Заявка: **2010151725/10**, **18.05.2009**

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

16.05.2008 US 61/053,847**02.10.2008 US 61/102,142**(43) Дата публикации заявки: **27.06.2012** Бюл. № 18(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: **16.12.2010**

(86) Заявка РСТ:

EP 2009/056026 (18.05.2009)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2009/138519 (19.11.2009)

Адрес для переписки:

**103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент", пат.пов. А.П. Агурееву**

(71) Заявитель(и):

АБЛИНКС НВ (BE)

(72) Автор(ы):

БЛАНШТО Кристоф (NL),**СМИТ Мартин (NL),****ЛЁРС Регориус (NL),****ЯНИХЕН Свен (DE),****САУНДЕРС Майкл Джон Скотт (BE),****ДЕ ХАРД Йоханнес Йозеф****Вильгельмус (NL),****ВАНЛАНДСОТ Петер (BE)**(54) **АМИНОКИСЛОТНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ, НАПРАВЛЕННЫЕ ПРОТИВ CXCR4 И
ДРУГИХ GPCR, И СОЕДИНЕНИЯ, ВКЛЮЧАЮЩИЕ ИХ**

(57) Формула изобретения

1. Полипептид, включающий одно или несколько нанотел, которые специфически связываются с CXCR4 человека (SEQ ID NO: 254), и, возможно, одно или несколько нанотел, которые специфически связываются с сывороточным белком,

и в котором нанотело или нанотела, которые специфически связываются с CXCR4 человека, получают способом, включающим, по меньшей мере, стадии

а) иммунизации ламы целыми клетками, которые являются живыми и экспрессируют CXCR4 человека на своей поверхности; и

б) отбора на связывание для CXCR4 человека; и, необязательно,

с) промывки, только умеренной, на стадии отбора буфером, таким как PBS без поверхностно-активных веществ;

и где

а) полипептид в высоких концентрациях (≥ 100 нМ) заменяет более 50%, предпочтительнее, 60%, даже предпочтительнее, 70%, даже предпочтительнее, 80%, даже предпочтительнее, 90%, наиболее предпочтительно, 95% CXCL12 человека (SEQ ID NO: 267), когда связывается с CXCR4 человека в конкурентно-связывающем анализе,

и/или

б) полипептид полностью антагонизирует хемоаттрактантное действие CXCL12 человека на CXCR4 человека в концентрации, которая равна или ниже 100 нМ, предпочтительнее, 10 нМ, предпочтительнее, 1 нМ, и наиболее предпочтительно, 0,1 нМ;

и где, если полипептид включает два или больше нанотел, полипептид также включает, необязательно, один или несколько пептидных линкеров.

2. Полипептид по п.1, включающий два или больше нанотел, которые специфически связываются с CXCR4 человека.

3. Полипептид по п.1 или 2, включающий два нанотела, которые специфически связываются с CXCR4 человека.

4. Полипептид по п.1, в котором, по меньшей мере, одно нанотело, по существу, состоит из 4 каркасных участков (FR1-FR4, соответственно) и 3 гипервариабельных участков (CDR1-CDR3, соответственно), где CDR1 выбран из группы, включающей

а) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 142-143;

б) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 142-143;

с) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 142-143;

и

- CDR2 выбран из группы, включающей

д) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174-175;

е) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 174-175;

ф) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 174-175;

и

- CDR3 выбран из группы, включающей

г) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 206-207;

h) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 206-207;

и) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 206-207.

5. Полипептид по п.1, в котором два нанотела, которые специфически связываются с CXCR4 человека, по существу, состоят из 4 каркасных участков (FR1-FR4, соответственно) и 3 гипервариабельных участков (CDR1-CDR3, соответственно), где CDR1 выбран из группы, включающей

а) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 142-143;

б) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 142-143;

с) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 142-143;

и

- CDR2 выбран из группы, включающей
- d) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174-175;
- e) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 174-175;
- f) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 174-175;

и

- CDR3 выбран из группы, включающей
- g) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 206-207;
- h) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 206-207;
- i) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 206-207.

6. Полипептид по п.1, в котором одно нанотело, которое специфически связывается с CXCR4 человека, по существу, состоит из 4 каркасных участков (FR1-FR4, соответственно) и 3 гипервариабельных участков (CDR1-CDR3, соответственно), где CDR1 выбран из группы, включающей

- a) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 142;
- b) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 142;
- c) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 142;

и

- CDR2 выбран из группы, включающей
- d) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174;
- e) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 174;
- f) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 174;

и

- CDR3 выбран из группы, включающей
- g) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 206;
- h) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 206;
- i) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 206;

где другое нанотело, которое специфически связывается с CXCR4 человека, по существу, состоит из 4 каркасных участков (FR1-FR4, соответственно) и 3 гипервариабельных участков (CDR1-CDR3, соответственно), где CDR1 выбран из группы, включающей

- j) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 143;
- k) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 143;
- l) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 143;
- и
- CDR2 выбран из группы, включающей
- m) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 175;
- n) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 175;
- o) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 175;
- и
- CDR3 выбран из группы, включающей
- p) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 207;
- q) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 207;
- r) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 207.
7. Полипептид по п.1, где нанотела выбраны из группы, состоящей из нанотел с, по меньшей мере 80% идентичностью по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 238-239.
8. Полипептид по п.1, выбранный из группы, состоящей из полипептидов с, по меньшей мере 80% идентичностью по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO:261-264, предпочтительно, SEQ ID NO: 263-264.
9. Нанотелло, состоящее, по существу, из 4 каркасных участков (FR1-FR4, соответственно) и 3 гипервариабельных участков (CDR1-CDR3, соответственно), где CDR1 выбран из группы, включающей
- a) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 142-143;
- b) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 142-143;
- c) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 142-143;
- и
- CDR2 выбран из группы, включающей
- d) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174-175;
- e) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 174-175;
- f) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных

последовательностей SEQ ID NO: 174-175;

и

- CDR3 выбран из группы, включающей

g) аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 206-207;

h) аминокислотные последовательности, которые имеют, по меньшей мере, 80% идентичность по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 206-207;

i) аминокислотные последовательности, которые имеют 3, 2 или 1 отличие по аминокислотам с, по меньшей мере, одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 206-207.

10. Нуклеиновая кислота или нуклеотидная последовательность, которая кодирует полипептид или нанотело по любому из пп.1-9.

11. Клетка-хозяин, которая в подходящих обстоятельствах способна экспрессировать полипептид или нанотело по любому из пп.1-9.

12. фармацевтическая композиция, включающая полипептид или нанотело по любому из пп.1-9.

13. Фармацевтическая композиция по п.12, также включающая, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент и/или адъювант, и которая необязательно включает один или несколько других фармацевтически активных полипептидов и/или соединений.

14. Способ скрининга аминокислотных последовательностей, направленных против CXCR4 человека (SEQ ID NO:254), включающий, по меньшей мере, стадии

a) обеспечения набора, коллекции или библиотеки нуклеотидных последовательностей, кодирующих аминокислотные последовательности;

b) скрининга указанного набора, коллекции или библиотеки нуклеотидных последовательностей на нуклеотидные последовательности, кодирующие аминокислотную последовательность, которая может связываться с и/или имеет аффинность к CXCR4 человека, и которая перекрестно блокируется или перекрестно блокирует нанотело или полипептид по пп.1-9,

и

c) выделения указанной нуклеотидной последовательности с последующей экспрессией указанной аминокислотной последовательности.

15. Способ лечения/Применение для лечения рака или СПИДа, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтически активного количества, по меньшей мере, одного полипептида или нанотела по любому из пп.1-9.

RU 2010151725 A

RU 2010151725 A