

R U 2 0 1 0 1 5 1 7 2 5 A

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11) 2010 151 725<sup>(13)</sup> A

(51) МПК  
C07K 16/28 (2006.01)

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.пov. 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  
Вильхельмус (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 ( $\geq 100$  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

R U 2 0 1 0 1 5 1 7 2 5 A

b) 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;

в) 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

г) 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;

ж) 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

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

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

к) 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;

в) 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 адьювант, 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

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

б) 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 напотело или полипептид по пп.1-9,

и

с) 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.