

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2020111554, 23.08.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

23.08.2017 US 62/549,201;
 14.09.2017 US 62/558,514;
 14.09.2017 US 62/558,509;
 14.09.2017 US 62/558,510;
 14.09.2017 US 62/558,511;
 02.10.2017 US 62/566,828;
 03.11.2017 US 62/581,357;
 20.12.2017 US 62/608,384

(43) Дата публикации заявки: 23.09.2021 Бюл. № 27

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 23.03.2020

(86) Заявка РСТ:
US 2018/047714 (23.08.2018)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2019/040727 (28.02.2019)Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"(71) Заявитель(и):
ДРАГОНФЛАЙ ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)(72) Автор(ы):
ЧАН, Грегори, П. (US),
ЧЕУНГ, Энн, Ф. (US),
ХАНИ, Уильям (US),
ЛУНДЕ, Брэдли, М. (US),
ПРИНЦ, Бьянка (US),
ВАГТМАНН, Николай (US),
ДУ, Цзыньян (US)

R U 2 0 2 0 1 1 5 5 4 A

(54) БЕЛКИ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ NKG2D, CD16 И ОПУХОЛЕАССОЦИРОВАННЫЙ АНТИГЕН

(57) Формула изобретения

1. Белок, содержащий:

- (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
- (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает антиген, выбранный из группы, состоящей из: CXCR4, CD25, VLA4, CD44, CD13, CD15, CD47, CD81, CD23, CD40, CD70, CD79a, CD79b, CD80, CRLF2, SLAMF7, CD138, CD38, области С цепи бета-1 Т-клеточного рецептора (TRBC1), области С цепи бета-2 Т-клеточного рецептора (TRBC2), члена семейства иммуноглобулиноподобных рецепторов лейкоцитов, выбранного из LILRB2, LILRB1, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA5 и LILRA6, и экспрессируемого регуляторными Т-клетками белка, выбранного из группы, состоящей из CCR8, CD7, CTLA4, CX3CR1, ENTPD1, HAVCR2, IL-1R2, PDCD1LG2, TIGIT, TNFRSF4, TNFRSF8, TNFRSF9, GEM, NT5E и TNFRSF18; и
- (с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.

2. Белок, содержащий:
 - (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
 - (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает CXCR4; и
 - (с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.
3. Белок, содержащий:
 - (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
 - (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает CD25; и
 - (с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.
4. Белок, содержащий:
 - (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
 - (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает опухолеассоциированный антиген, выбранный из VLA4, CD44, CD13, CD15, CD47 и CD81; и
 - (с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.
5. Белок, содержащий:
 - (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
 - (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает опухолеассоциированный антиген, выбранный из CD23, CD40, CD70, CD79a, CD79b, CD80 и CRLF2; и
 - (с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.
6. Белок, содержащий:
 - (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
 - (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает ассоциированный с множественной миеломой антиген, выбранный из SLAMF7, CD138 и CD38; и
 - (с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.
7. Белок, содержащий:
 - (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
 - (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает ассоциированный с Т-клетками антиген опухоли, выбранный из области С цепи бета-1 Т-клеточного рецептора (TRBC1) и области С цепи бета-2 Т-клеточного рецептора (TRBC2); и
 - (с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.
8. Белок, содержащий:
 - (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
 - (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает член семейства иммуноглобулиноподобных рецепторов лейкоцитов, выбранный из LILRB2, LILRB1, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA5 и LILRA6; и
 - (с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.
9. Белок, содержащий:
 - (а) первый антигенсвязывающий участок, который связывает NKG2D;
 - (б) второй антигенсвязывающий участок, который связывает экспрессируемый регуляторными Т-клетками белок, выбранный из группы, состоящей из CCR8, CD7, CTLA4, CX3CR1, ENTPD1, HAVCR2, IL-1R2, PDCD1LG2, TIGIT, TNFRSF4, TNFRSF8, TNFRSF9, GEM, NT5E и TNFRSF18; и

(с) домен Fc антитела или его фрагмент, достаточный для связывания CD16, или третий антигенсвязывающий участок, который связывает CD16.

10. Белок по любому из пп. 1-9, где первый антигенсвязывающий участок связывает NKG2D у человека, нечеловекообразных приматов и грызунов.

11. Белок по любому из пп. 1-10, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи.

12. Белок по п. 11, где вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи присутствуют на одном и том же полипептиде.

13. Белок по п. 11 или 12, где второй антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи.

14. Белок по п. 13, где вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи второго антигенсвязывающего участка присутствуют на одном и том же полипептиде.

15. Белок по п. 13 или 14, где вариабельный домен легкой цепи из первого антигенсвязывающего участка имеет аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи из второго антигенсвязывающего участка.

16. Белок по любому из предшествующих пунктов, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный аминокислотной последовательности, выбранной из: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:85 и SEQ ID NO:93.

17. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 41, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:42.

18. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 49, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:50.

19. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 57, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:58.

20. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 59, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:60.

21. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 61, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:62.

22. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 69, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:70.

23. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 77, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:78.

24. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 85, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:86.

25. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 93, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:94.

26. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 101, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:102.

27. Белок по любому из пп. 1-15, где первый антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO: 103, и вариабельный домен легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичный SEQ ID NO:104.

28. Белок по любому из пп. 1-10, где первый антигенсвязывающий участок представляет собой однодоменное антитело.

29. Белок по п. 28, где однодоменное антитело представляет собой фрагмент $V_{H}H$ или фрагмент V_{NAR} .

30. Белок по любому из пп. 1-10 или 28, 29, где второй антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи.

31. Белок по п. 30, где вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи из второго антигенсвязывающего участка присутствуют на одном и том же полипептиде.

32. Белок по любому из пп. 1, 2 или 16-31, где второй антигенсвязывающий участок связывает CXCR4, вариабельный домен тяжелой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:109, и вариабельный домен легкой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:110.

33. Белок по п. 32, где вариабельный домен тяжелой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, включающую:

последовательность CDR1 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:111;

последовательность CDR2 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:112; и

последовательность CDR3 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:113.

34. Белок по п. 33, где вариабельный домен легкой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, включающую:

последовательность CDR1 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:114;

последовательность CDR2 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:115;

и последовательность CDR3 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:116.

35. Белок по любому из пп. 1, 2 или 16-31, где второй антигенсвязывающий участок

связывает CXCR4, вариабельный домен тяжелой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:117, и вариабельный домен легкой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:118.

36. Белок по п. 35, где вариабельный домен тяжелой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, включающую:

последовательность CDR1 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:119;

последовательность CDR2 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:120; и

последовательность CDR3 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:121.

37. Белок по п. 36, где вариабельный домен легкой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, включающую:

последовательность CDR1 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:122;

последовательность CDR2 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:123; и

последовательность CDR3 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:124.

38. Белок по любому из пп. 1, 2 или 16-31, где второй антигенсвязывающий участок связывает CXCR4, вариабельный домен тяжелой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:522, и вариабельный домен легкой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO:526.

39. Белок по п. 38, где вариабельный домен тяжелой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, включающую:

последовательность CDR1 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:523;

последовательность CDR2 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:524; и

последовательность CDR3 тяжелой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:525.

40. Белок по п. 39, где вариабельный домен легкой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, включающую:

последовательность CDR1 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:527;

последовательность CDR2 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:528; и

последовательность CDR3 легкой цепи, идентичную аминокислотной последовательности из SEQ ID NO:529.

41. Белок по любому из пп. 1, 3 или 16-31, где второй антигенсвязывающий участок связывает CD25, вариабельный домен тяжелой цепи из второго антигенсвязывающего участка содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90%

CH2.

86. Белок по любому из пп. 1-84, где домен Fc антитела содержит шарнирный домен и домен CH2 антитела IgG1 человека.

87. Белок по п. 85 или 86, где домен Fc содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотам 234-332 антитела IgG1 человека.

88. Белок по п. 87, где домен Fc содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную домену Fc IgG1 человека, и отличается в одном или нескольких положениях, выбранных из группы, состоящей из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411, K439.

89. Состав, содержащий белок по любому из предшествующих пунктов и фармацевтически приемлемый носитель.

90. Клетка, содержащая одну или несколько нуклеиновых кислот, экспрессирующих белок по любому из пп. 1-88.

91. Способ непосредственного и/или опосредованного увеличения гибели клеток опухоли, включающий подвергание клеток опухоли и клеток естественных киллеров воздействию белка по любому из пп. 1-88.

92. Способ лечения злокачественной опухоли, включающий введение белка по любому из пп. 1-88 или состава по п. 89 пациенту.

93. Способ по п. 92, где, когда второй участок связывания связывает CXCR4, злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза, множественной миеломы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, тимомы, аденокистозной карциномы, злокачественной опухоли желудочно-кишечного тракта, рака почки, рака молочной железы, глиобластомы, рака легкого, рака яичника, злокачественной опухоли мозга, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы и меланомы.

94. Способ по п. 92, где, когда второй участок связывания связывает CD25, злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза, хронического лимфоцитарного лейкоза, глиобластомы, рака мочевого пузыря, рака толстого кишечника, опухоли половых клеток, рака легкого, остеосаркомы, меланомы, рака яичника, множественной миеломы, рака головы и шеи, почечноклеточного рака и рака молочной железы.

95. Способ по п. 92, где, когда второй участок связывания связывает VLA4, CD44, CD13, CD15, CD47 или CD81, злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза, множественной миеломы, хронического лимфоцитарного лейкоза, В-клеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, лимфомы Ходжкина, рака молочной железы, глиобластомы, рака головы и шеи, рака яичника, рака предстательной железы, меланомы, рака легкого, рака поджелудочной железы, рака печени, рака желудка, рака щитовидной железы и злокачественной опухоли мозга.

96. Способ по п. 92, где, когда второй участок связывания связывает CD23, CD40, CD70, CD79a, CD79b, CD80 или CRLF2, злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из В-клеточных злокачественных новообразований, неходжкинской лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, множественной миеломы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, рака почки, глиобластомы, рака головы и шеи, носоглоточной карциномы, рака мочевого пузыря, рака шейки матки, рака почки и рака яичника.

97. Способ по п. 92, где, когда второй участок связывания связывает LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA5 или LILRA6, злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из AML, В-клеточного лейкоза,

В-клеточной лимфомы, множественной миеломы, Т-клеточного лейкоза, Т-клеточной лимфомы, рака легкого, рака желудка, рака молочной железы и рака поджелудочной железы.

R U 2 0 2 0 1 1 1 5 5 4 A

R U 2 0 2 0 1 1 1 5 5 4 A