

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2017103675, 22.07.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
22.07.2014 KR 10-2014-0092673;  
21.07.2015 KR 10-2015-0103163

(43) Дата публикации заявки: 06.08.2018 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 03.02.2017(86) Заявка РСТ:  
KR 2015/007626 (22.07.2015)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2016/013870 (28.01.2016)Адрес для переписки:  
109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО  
"Союзпатент"

(71) Заявитель(и):

**ОРУМ ТЕРАПЬЮТИКС ИНК. (KR)**

(72) Автор(ы):

**КИМ Ён Сон (KR),  
ЦОЙ Тон Ки (KR),  
СИН Сон Мин (KR),  
КИМ Сон Хун (KR)**(54) СПОСОБ РАЗМЕЩЕНИЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ АНТИТЕЛ В ВИДЕ ПОЛНОГО  
ИММУНОГЛОБУЛИНА ПУТЕМ ПРОНИКНОВЕНИЯ АНТИТЕЛ ЧЕРЕЗ КЛЕТОЧНУЮ МЕМБРАНУ  
И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

## (57) Формула изобретения

1. Способ локализации антитела в формате интактного иммуноглобулина в цитозоле путем проникновения через мембрану клеток, причем антитело содержит вариабельную область легкой цепи ( $V_L$ ), обладающую способностью к проникновению в цитозоль.

2. Способ по п. 1, при этом антитело представляет собой химерное, человеческое или гуманизованное антитело.

3. Способ по п. 1, при этом антитело выбрано из группы, состоящей из IgG, IgM, IgA, IgD и IgE.

4. Способ по п. 1, при этом способность к проникновению в цитозоль включает проникновение в клетки посредством эндоцитоза, а затем высвобождение из эндосом.

5. Способ по п. 1, при этом вариабельная область легкой цепи включает:  
CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID No: 4; и

CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из приведенных в SEQ ID Nos: 6 и 12.

6. Способ по п. 1, при этом 2-я и 4-я аминокислота при нумерации начиная с N-конца

вариабельной области легкой цепи заменены на лейцин (L) и метионин (M), соответственно (причем положения аминокислот приводятся по системе нумерации Кабат).

7. Способ по п. 1, при этом 9-я, 10-я, 13-я, 17-я, 19-я, 21-я, 22-я, 42-я, 45-я, 58-я, 60-я, 79-я и 85-я аминокислота при нумерации начиная с N-конца вариабельной области легкой цепи заменены на серин (S), серин (S), аланин (A), валин (V), аспарагиновую кислоту (D), валин (V), изолейцин (I), треонин (T), лизин (K), лизин (K), валин (V), серин (S), глутамин (Q) и треонин (T), соответственно (причем положения аминокислот приводятся по системе нумерации Кабат).

8. Способ по п. 1, при этом 89-я и 91-я аминокислота при нумерации начиная с N-конца вариабельной области легкой цепи заменены на глутамин (Q) и тирозин (Y), соответственно (причем положения аминокислот приводятся по системе нумерации Кабат).

9. Способ по п. 1, при этом вариабельная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID Nos: 1, 2 и 3.

10. Способ по п. 1, при этом антитело является таким, которое активно проникает в живые клетки.

11. Способ по п. 1, при этом антитело является таким, которое нацелено на макромолекулы цитозоля, ядра, митохондрий, эндоплазматического ретикулума и/или других органелл.

12. Способ по п. 11, при этом макромолекула органеллы представляют собой белок, липид, ДНК или РНК.

13. Способ по п. 12, при этом белок связан с контролированием роста клеток, пролиферации клеток, клеточного цикла, с репарацией ДНК, целостностью ДНК, транскрипцией, репликацией, трансляцией или внутриклеточным транспортом.

14. Способ по п. 12, при этом белок является модифицированным, активированным или мутантным, содержащим фосфатную группу, карбоксильную группу, метильную группу, сульфатную группу, липид, гидроксильную группу или амидную группу.

15. Способ по п. 1, при этом антитело специфически связывается с активированным RAS в цитозоле.

16. Способ по п. 15, при этом связывание антитела с активированным RAS в цитозоле происходит через вариабельную область тяжелой цепи антитела, специфически связывающегося с активированным RAS в цитозоле.

17. Способ по п. 15, при этом активированный RAS представляет собой мутантный RAS.

18. Способ по п. 16, при этом вариабельная область тяжелой цепи включает: CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID No: 14;

CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID No: 15; и

CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID No: 16.

19. Способ по п. 16, при этом вариабельная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID No: 13.

20. Вариабельная область легкой цепи ( $V_L$ ), которая вызывает локализацию антитела в формате интактного иммуноглобулина в цитозоле путем проникновения через

мембрану клеток.

21. Вариабельная область легкой цепи ( $V_L$ ) по п. 20, при этом вариабельная область легкой цепи включает:

CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID No: 4; и

CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из приведенных в SEQ ID Nos: 6 и 12.

22. Вариабельная область легкой цепи ( $V_L$ ) по п. 20, при этом 2-я и 4-я аминокислота при нумерации начиная с N-конца вариабельной области легкой цепи заменены на лейцин (L) и метионин (M), соответственно (причем положения аминокислот приводятся по системе нумерации Кабат).

23. Вариабельная область легкой цепи ( $V_L$ ) по п. 20, при этом 9-я, 10-я, 13-я, 17-я, 19-я, 21-я, 22-я, 42-я, 45-я, 58-я, 60-я, 79-я и 85-я аминокислота при нумерации начиная с N-конца вариабельной области легкой цепи заменены на серин (S), серин (S), аланин (A), валин (V), аспарагиновую кислоту (D), валин (V), изолейцин (I), треонин (T), лизин (K), лизин (K), валин (V), серин (S), глутамин (Q) и треонин (T), соответственно (причем положения аминокислот приводятся по системе нумерации Кабат).

24. Вариабельная область легкой цепи ( $V_L$ ) по п. 20, при этом 89-я и 91-я аминокислота при нумерации начиная с N-конца вариабельной области легкой цепи заменены на глутамин (Q) и тирозин (Y), соответственно (причем положения аминокислот приводятся по системе нумерации Кабат).

25. Вариабельная область легкой цепи ( $V_L$ ) по п. 20, при этом вариабельная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID Nos: 1, 2 и 3.

26. Вариабельная область легкой цепи ( $V_L$ ) по п. 20, при этом способность к проникновению в цитозоль включает проникновение в клетки посредством эндоцитоза, а затем высвобождение из эндосом.

27. Антитело, содержащее вариабельную область легкой цепи по любому из п.п. 20-26.

28. Антитело по п. 27, при этом антитело является таким, которое проникает через клеточную мембрану и локализуется в цитозоле.

29. Антитело по п. 27, при этом антитело представляет собой химерное, человеческое или гуманизованное антитело.

30. Антитело по п. 27, при этом антитело выбрано из группы, состоящей из IgG, IgM, IgA, IgD и IgE.

31. Антитело по п. 27, при этом антитело является таким, которое нацелено на макромолекулы цитозоля, ядра, митохондрий, эндоплазматического ретикулума и/или других органелл.

32. Антитело по п. 31, при этом макромолекула органеллы представляет собой белок, липид, ДНК или РНК.

33. Антитело по п. 32, при этом белок связан с контролированием роста клеток, пролиферации клеток, клеточного цикла, с репарацией ДНК, целостностью ДНК, транскрипцией, репликацией, трансляцией или внутриклеточным транспортом.

34. Антитело по п. 32, при этом белок является модифицированным, активированным или мутантным, содержащим фосфатную группу, карбоксильную группу, метильную группу, сульфатную группу, липид, гидроксильную группу или амидную группу.

35. Антитело по п. 27, при этом антитело специфически связывается с активированным

RAS в цитозоле.

36. Антитело по п. 35, при этом антитело специфически связывается с активированным RAS в цитозоле через вариабельную область тяжелой цепи антитела, специфически связывающегося с активированным RAS в цитозоле.

37. Антитело по п. 35, при этом активированный RAS представляет собой мутантный RAS.

38. Антитело по п. 36, при этом вариабельная область тяжелой цепи включает:

CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID No: 14;

CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID No: 15; и

CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%-ую гомологию аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID No: 16.

39. Антитело по п. 36, при этом вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID No: 13.

40. Биологически активная молекула, слитая с антителом по любому из пп. 29-39 и выбранная из группы, состоящей из пептидов, белков, низкомолекулярных препаратов, наночастиц и липосом.

41. Фармацевтическая композиция для профилактики или лечения рака, включающая в качестве активных ингредиентов: антитело по любому из пп. 27-39; или биологически активную молекулу, слитую с антителом и выбранную из группы, состоящей из пептидов, белков, низкомолекулярных препаратов, наночастиц и липосом.

42. Композиция для диагностики рака, содержащая: антитело по любому из пп. 27-39; или биологически активную молекулу, слитую с антителом и выбранную из группы, состоящей из пептидов, белков, низкомолекулярных препаратов, наночастиц и липосом.

43. Полинуклеотид, кодирующий вариабельную область легкой цепи по любому из пп. 20-26 и антитело по любому из пп. 27-39.

44. Способ получения антитела, которое локализуется в цитозоле путем проникновения в клетки, который включает стадию замены вариабельной области легкой цепи антитела на вариабельную область легкой цепи, обладающую способностью к локализации в цитозоле путем проникновения в клетки.

RU 2017103675 A

RU 2017103675 A