



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** (11) **2004 122 702** (13) **A**
(51) МПК⁷ **C 07 K 16/12, 16/18, 2/00, A**
61 K 39/395, C 12 N 1/21, C 12 P
21/00, 21/08, G 01 N 33/53, C 12
N 15/13, A 61 P 35/00, 37/00

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21), (22) Заявка: **2004122702/13, 26.12.2002**

(30) Приоритет: **26.12.2001 US 60/342,103**

(43) Дата публикации заявки: **20.04.2005 Бюл. № 11**

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: **26.07.2004**

(86) Заявка РСТ:
US 02/38985 (26.12.2002)

(87) Публикация РСТ:
WO 03/05782 (17.07.2003)

Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3, ООО
"Юридическая фирма Городисский и Партнеры",
пат.пов. Г.Б. Егоровой

(71) Заявитель(и):
ИММУНОМЕДИКС, ИНК. (US),
АйБиСи ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ (US)

(72) Автор(ы):
РОССИ Эдмунд (US),
ЧАНГ Чиен-Хсинг Кен (US),
ГОЛДЕНБЕРГ Дэвид (US)

(74) Патентный поверенный:
Егорова Галина Борисовна

(54) **СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИСПЕЦИФИЧНЫХ, ПОЛИВАЛЕНТНЫХ СРЕДСТВ ИЗ VN И VL ДОМЕНОВ**

Формула изобретения

1. Набор для доставки диагностического средства, терапевтического средства или их сочетания в мишень, включающий:

а. поливалентный, полиспецифичный связывающий белок, включающий три или более сайтов связывания, при этом по меньшей мере один сайт связывания обладает аффинностью в отношении гаптенного фрагмента и по меньшей мере два сайта связывания обладают аффинностью в отношении целевого антигена; и

б. молекулу-носитель, включающую диагностическое средство, терапевтическое средство или их сочетание, связующую молекулу и по меньшей мере два гаптенных фрагмента, расположенных таким образом, что позволяют осуществлять одновременное связывание указанных гаптенных фрагментов с двумя указанными связывающими белками.

2. Поливалентный, полиспецифичный связывающий белок, включающий первый сайт связывания, обладающий аффинностью в отношении гаптенного фрагмента, и второй и третий сайты связывания, каждый из которых обладает аффинностью в отношении целевого антигена, который может быть одинаковым или различным целевым антигеном.

3. Связывающий белок по п.2, отличающийся тем, что указанный целевой антиген представляет собой сайт связывания, ассоциированный с заболеванием человека.

4. Связывающий белок по п.3, отличающийся тем, что указанный сайт связывания, ассоциированный с заболеванием человека, выбран из группы, состоящей из сайтов связывания рака, сайтов связывания аутоиммунного заболевания, сайтов связывания инфекционного заболевания, сайтов связывания сердечно-сосудистого заболевания,

сайтов связывания воспалительного заболевания.

5. Связывающий белок по п.2, отличающийся тем, что указанный первый сайт связывания обладает аффинностью в отношении молекул, содержащих гистамин-сукцинил-глицильный (ГСГ) фрагмент, и указанный второй и указанный третий сайты связывания, каждый, обладают аффинностью в отношении карциноэмбрионального антигена (КЭА).

6. Связывающий белок по п.5, отличающийся тем, что включает мышинные, гуманизированные или человеческие последовательности или их сочетание.

7. Связывающий белок по п.5, отличающийся тем, что указанный первый сайт связывания включает первый и второй полипептиды, которые связываются друг с другом с образованием указанного сайта связывания ГСГ антигена.

8. Связывающий белок по п.7, отличающийся тем, что указанный первый полипептид включает V_H полипептид Мат 679 (фиг. 4, SEQ ID) и указанный второй полипептид включает V_K полипептид Мат 679 (фиг. 4, SEQ ID).

9. Связывающий белок по п.7, отличающийся тем, что указанный первый полипептид включает V_H полипептид Мат h679 (фиг. 5, SEQ ID) и указанный второй полипептид включает V_K полипептид Мат h679 (фиг. 5, SEQ ID).

10. Связывающий белок по п.8, отличающийся тем, что указанный второй сайт связывания включает третий и четвертый полипептиды, которые связываются друг с другом с образованием указанного первого сайта связывания антигена КЭА.

11. Связывающий белок по п.10, отличающийся тем, что указанный третий полипептид включает V_H полипептид Мат hMN14 (фиг. 6, SEQ ID) и указанный четвертый полипептид включает V_K полипептид Мат hMN14 (фиг. 6, SEQ ID).

12. Связывающий белок по п.8, отличающийся тем, что указанный третий сайт связывания включает пятый и шестой полипептиды, которые связываются друг с другом с образованием указанного второго сайта связывания антигена КЭА.

13. Связывающий белок по п.12, отличающийся тем, что указанный пятый полипептид включает V_H полипептид Мат hMN14 (фиг. 6, SEQ ID) и указанный шестой полипептид включает V_K полипептид Мат hMN14 (фиг. 6, SEQ ID).

14. Связывающий белок по п.12, отличающийся тем, что указанные первый и четвертый полипептиды соединяются посредством первого линкера, указанные четвертый и пятый полипептиды соединяются посредством второго линкера, указанные второй и третий полипептиды соединяются посредством третьего линкера и указанные третий и шестой полипептиды соединяются посредством четвертого линкера.

15. Связывающий белок по п.14, отличающийся тем, что указанный первый линкер и указанный третий линкер, каждый, включают шестнадцать аминокислотных остатков, и указанный второй линкер и указанный четвертый линкер, каждый, включают пять аминокислотных остатков.

16. Связывающий белок по п.12, отличающийся тем, что указанные первый и третий полипептиды соединяются посредством первого линкера, указанные третий и пятый полипептиды соединяются посредством второго линкера, указанные второй и четвертый полипептиды соединяются посредством третьего линкера и указанные четвертый и шестой полипептиды соединяются посредством четвертого линкера.

17. Связывающий белок по п.16, отличающийся тем, что указанный первый линкер и указанный третий линкер, каждый, включают шестнадцать аминокислотных остатков, и указанный второй линкер и указанный четвертый линкер, каждый, включают пять аминокислотных остатков.

18. Связывающий белок по п.5, отличающийся тем, что представляет собой гетеродимер.

19. Связывающий белок по п.12, отличающийся тем, что указанные первый, второй, третий, четвертый, пятый и шестой полипептиды, каждый, кодируются первой, второй, третьей, четвертой, пятой и шестой кДНК соответственно.

20. Связывающий белок по п.19, отличающийся тем, что указанные первая, вторая, третья, четвертая, пятая и шестая кДНК включают нуклеотидные последовательности,

показанные на фиг. 4 и 6 (SEQ ID).

21. Молекула нуклеиновой кислоты, включающая первую, четвертую и пятую кДНК, кодирующую связывающий белок по п.20.

22. Молекула нуклеиновой кислоты, включающая вторую, третью и шестую кДНК, кодирующую связывающий белок по п.20.

23. Экспрессирующая кассета, включающая нуклеотидные последовательности, кодирующие связывающий белок по п.20.

24. Экспрессирующая кассета по п. 23, отличающаяся тем, что представляет собой плазмиду.

25. Клетка-хозяин, включающая плазмиду по п. 24.

26. Способ получения связывающего белка, включающий культивирование клетки-хозяина по п.25 в подходящей среде и отделение указанного связывающего белка из указанной среды.

27. Связывающий белок по п.14, отличающийся тем, что указанные первый, второй, третий, четвертый, пятый и шестой полипептиды, каждый, кодируются первой, второй, третьей, четвертой, пятой и шестой кДНК соответственно.

28. Связывающий белок по п.27, отличающийся тем, что указанные первая, вторая, третья, четвертая, пятая и шестая кДНК включают нуклеотидные последовательности, показанные на фиг. 4 и 6 (SEQ ID).

29. Связывающий белок по п.27, отличающийся тем, что указанные первая, третья и пятая кДНК находятся на первой единственной молекуле нуклеиновой кислоты.

30. Связывающий белок по п.29, отличающийся тем, что указанные вторая, четвертая и шестая кДНК находятся на второй единственной молекуле нуклеиновой кислоты.

31. Экспрессирующая кассета, включающая молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей связывающий белок по п.30.

32. Экспрессирующая кассета по п. 31, отличающаяся тем, что представляет собой плазмиду.

33. Клетка-хозяин, включающая плазмиду по п. 32.

34. Способ получения связывающего белка, включающий культивирование клетки-хозяина по п.33 в подходящей среде и выделение указанного связывающего белка из указанной среды.

35. Молекула-носитель, включающая диагностическое средство, терапевтическое средство или их сочетание, связующий фрагмент и два или более гаптеновых фрагментов, при этом указанные гаптеновые фрагменты расположены таким образом, что позволяют осуществлять одновременное связывание указанных гаптеновых фрагментов с сайтами связывания одного или более связывающих белков.

36. Способ скрининга для определения коэффициента молярного замещения гаптена молекулой-носителем, включающий очистку смеси с молекулами-носителями с последующей реакцией связывания гаптена и проведения теста на связывание металла на очищенной смеси для определения указанного коэффициента молярного замещения.

37. Способ доставки диагностического средства, терапевтического средства или их сочетания к мишени, включающий:

а. введение субъекту, нуждающемуся в этом, связывающего белка по п. 5;

б. выжидание достаточного периода времени для того, чтобы определенное количество несвязывающего белка было выведено из кровотока субъекта; и

с. введение указанному субъекту молекулы-носителя, включающей диагностическое средство, терапевтическое средство или их сочетание, которое связывается с сайтом связывания связывающего белка.

38. Способ по п. 37, отличающийся тем, что указанная молекула-носитель связывается с одним сайтом связывания первого связывающего белка и со вторым сайтом связывания второго связывающего белка.

39. Способ по п. 37, отличающийся тем, что указанное диагностическое средство или указанное терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из изотопов, лекарственных средств, токсинов, цитокинов, гормонов, ростовых факторов, конъюгатов,

радионуклидов и металлов.

40. Способ по п. 39, отличающийся тем, что указанные изотопы выбраны из группы, состоящей из ^{90}Y , ^{111}In , ^{131}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{186}Re , ^{188}Re , ^{177}Lu , ^{67}Cu , ^{212}Bi , ^{213}Bi и ^{211}At .

41. Способ по п. 39, отличающийся тем, что указанные лекарственные средства представляют собой фармацевтические средства, которые связываются с молекулой-носителем.

42. Способ по п. 39, отличающийся тем, что указанные металлы выбраны из группы, состоящей из гадолиния и контрастных агентов.

43. Способ по п. 42, отличающийся тем, что указанные контрастные агенты выбраны из группы, состоящей из контрастных агентов для ЯМР-томографии, контрастных агентов для компьютерной томографии и контрастных агентов, применяемых для ультразвукового обследования.

44. Способ выявления или лечения заболевания у человека, включающий:

а. введение субъекту, нуждающемуся в этом, связывающего белка по п. 2;

б. выжидание достаточного периода времени для того, чтобы определенное количество несвязанного связывающего белка было выведено из кровотока субъекта; и

с. введение указанному субъекту молекулы-носителя, включающей диагностическое средство, терапевтическое средство или их сочетание, которое связывается с сайтом связывания связывающего белка.

45. Способ по п. 44, отличающийся тем, что указанное заболевание у человека выбрано из группы, состоящей из рака, аутоиммунных заболеваний, инфекционных заболеваний, сердечно-сосудистых заболеваний и воспалительных заболеваний.

46. Поливалентный, полиспецифичный связывающий белок, включающий сайт связывания гистамин-сукцинил-глицила (ГСГ), обладающий аффинностью в отношении молекул, содержащих ГСГ фрагмент, сайт связывания металл-хелатного комплекса индий-ДТПУ, обладающий аффинностью в отношении металл-хелатного комплекса индий-ДТПУ, и сайт связывания карциноэмбрионального антигена (КЭА), обладающий аффинностью в отношении КЭА.

47. Связывающий белок по п.46, отличающийся тем, что включает мышинные, гуманизированные или человеческие последовательности.

48. Связывающий белок по п.46, отличающийся тем, что кодируется нуклеотидными последовательностями, показанными на фиг. 8 и 9.

49. Молекула нуклеиновой кислоты, включающая нуклеотидную последовательность, показанную на фиг. 8 и 9.

50. Экспрессирующая кассета, включающая молекулу нуклеиновой кислоты по п. 49.

51. Экспрессирующая кассета по п. 50, отличающаяся тем, что представляет собой плазмиду.

52. Клетка-хозяин, включающая плазмиду по п. 51.

RU 2 0 0 4 1 2 2 7 0 2 A

RU 2 0 0 4 1 2 2 7 0 2 A