

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

(21)(22) Заявка: 2020113027, 10.09.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
13.09.2017 US 62/557,870

(43) Дата публикации заявки: 13.10.2021 Бюл. № 29

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 13.04.2020(86) Заявка РСТ:  
CA 2018/051108 (10.09.2018)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2019/051586 (21.03.2019)Адрес для переписки:  
191002, Санкт-Петербург, а/я 5, ООО "Ляпунов  
и партнеры"

(71) Заявитель(и):

**НЭШНЛ РИСЕЧ КАУНСИЛ ОФ  
КАНАДА (СА)**

(72) Автор(ы):

**ГЕНРИ Кевин (СА),  
ХАРАМИЛЬО Мария Лус (СА),  
МАККЕНЗИ Колин Роджер (СА),  
Марсел Энн (СА)**(54) **AXL-СПЕЦИФИЧНЫЕ АНТИТЕЛА И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

## (57) Формула изобретения

1. Выделенное или очищенное антитело, специфично связывающееся с эпитопом в иммуноглобулин-подобном (IgL) домене эктодомена (ECD) AXL (рецепторная тирозинкиназа Tyro3-AXL-Mer) человека.

2. Антитело по п. 1, где ECD AXL имеет аминокислотную последовательность SEQ. ID NO:71.

3. Антитело по п. 1, где эпитоп расположен в IgL1 или IgL2 AXL.

4. Антитело по п. 1, способное к интернализации в экспрессирующих AXL опухолевых клетках.

5. Антитело по п. 1, представляющее собой однодоменное антитело, моноклональное антитело, гуманизированное антитело, химерное антитело, бипаратопное антитело, биспецифическое антитело или AXL-связывающий фрагмент антитела.

6. Антитело по п. 5, где химерное антитело содержит каркасные области из IgG1 человека.

7. Антитело по п. 6, где химерное антитело содержит каркасные области легкой цепи каппа человека и тяжелой цепи IgG человека.

8. Антитело по п. 1, содержащее каркасные области из IgA, IgD, IgE, IgG или IgM.

9. Антитело по п. 1, содержащее полноразмерный IgG, Fv, scFv, Fab или F(ab')<sub>2</sub>, V<sub>H</sub>H (вариабельная область тяжелой цепи), V<sub>L</sub> (вариабельная область легкой цепи) или V<sub>H</sub> (вариабельная область тяжелой цепи).

10. Антитело по п. 1, имеющее равновесную константу диссоциации ( $K_D$ ) менее или равной 50 нМ с эктодоменом AXL человека.

11. Антитело по п. 1, где связывание с эпитопом в домене IgL ECD AXL не конкурирует со связыванием лиганда белка остановки роста 6 (Gas6) с AXL.

12. Антитело или его фрагмент, содержащее последовательности CDR1 (область, определяющая комплементарность), CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи (VL), выбранные из группы, состоящей из:

SEQ. ID NO: 98, 99 и 100;

SEQ. ID NO: 92, 93 и 94;

SEQ. ID NO: 110, 111 и 112;

SEQ. ID NO: 86, 87 и 88;

SEQ. ID NO: 80, 81 и 82;

SEQ. ID NO: 104, 105 и 106;

SEQ. ID NO: 116; 117 и 118; и

по существу идентичных им последовательностей.

13. Антитело или его фрагмент, содержащее последовательность вариабельной области легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из:

SEQ. ID NO: 38;

SEQ. ID NO: 40;

SEQ. ID NO: 42;

SEQ. ID NO: 44;

SEQ. ID NO: 46;

SEQ. ID NO: 74;

SEQ. ID NO: 76 и

по существу идентичных им последовательностей.

14. Антитело или его фрагмент, содержащее последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи (VH), выбранные из группы, состоящей из:

SEQ. ID NO: 95, 96 и 97;

SEQ. ID NO: 89, 90 и 91;

SEQ. ID NO: 107, 108 и 109;

SEQ. ID NO: 83, 84 и 85;

SEQ. ID NO: 77, 78 и 79;

SEQ. ID NO: 101, 102 и 103;

SEQ. ID NO: 113; 114 и 115; и

по существу идентичных им последовательностей.

15. Антитело или его фрагмент, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из:

SEQ. ID NO: 39;

SEQ. ID NO: 41;

SEQ. ID NO: 43;

SEQ. ID NO: 45;

SEQ. ID NO: 47;

SEQ. ID NO: 73;

SEQ. ID NO: 75; и

по существу идентичных им последовательностей.

16. Антитело по любому из пп. 1-4 или его фрагмент, содержащее последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH, выбранные из группы, состоящей из:

VL, SEQ. ID NO: 98-100; и VH, SEQ. ID NO: 95-97;

VL, SEQ. ID NO: 92-94; и VH, SEQ. ID NO: 89-91;

VL, SEQ. ID NO: 110-112; и VH, SEQ. ID NO: 107-109;  
 VL, SEQ. ID NO: 86-88; и VH, SEQ. ID NO: 83-85;  
 VL, SEQ. ID NO: 80-82; и VH, SEQ. ID NO: 77-79;  
 VL, SEQ. ID NO: 104-106; и VH, SEQ. ID NO: 101-103;  
 VL, SEQ. ID NO: 116-118; и VH, SEQ. ID NO: 113-115; и  
 по существу идентичных им последовательностей.

17. Антитело по любому из пп. 1-4 или его фрагмент, содержащее последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 однодоменной (од) варибельной области тяжелой цепи (VHH), выбранные из группы, состоящей из:

SEQ. ID NO: 127, 128 и 129;  
 SEQ. ID NO: 130, 131 и 132;  
 SEQ. ID NO: 133, 134 и 135;  
 SEQ. ID NO: 136, 137 и 138;  
 SEQ. ID NO: 139, 140 и 141;  
 SEQ. ID NO: 142, 143 и 144;  
 SEQ. ID NO: 145, 146 и 147;  
 SEQ. ID NO: 148; 149 и 150; и

по существу идентичных им последовательностей.

18. Антитело или его фрагмент, содержащее последовательность однодоменной (од) варибельной области тяжелой цепи (VHH), выбранную из группы, состоящей из:

QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCTASASISSFDIMGWYRQAPGKQRELVAAITTLDIAN  
 YRDSVKGRFTISRDNKNTVYQLQMSLKPEDTARYHCAAFQSDQNYWGQGTQVTVSS  
 (SEQ. ID NO:119);

QVQLVDSGGGLVQAGGSLRLSCATSTRTVSSAVMAWFRQAPEKVRDFVGFITNSGN  
 ILYDDSVKGRFTISRDNKNTVYQLQMNSLKPEDTAVYYCAAKWSFSSGYGDLRRAAM  
 YDYWGQGTQVTVSS (SEQ. ID NO:120);

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVTLDTAIGWFRQAPGKERELVAAITSGGN  
 TDYAESAKGRFRISRDNKNTIYQLQMNSLKPEDTGVYYCAARRGGARGEYDYWDQGT  
 QVTVSS (SEQ. ID NO:121);

QVQLVESGGGVVQAGGSLRLSCAFSRGAFDTYEIGWFRQAPGKEREFVAAVTRNGD  
 SVVYADSLKARFTASRNNAVNTAYLHMNILQPEDTATYYCAANWRPLRTSSGADDYA  
 DWGQGTQVTVSS (SEQ. ID NO:122);

QVKLEESGGGLAQAGGSLRLSCAASGSISSINTIGWFRQAPGKQRELVAAASDSGANR  
 NYADSVKGRFTISRDNKNTVYQLQMNNLKPEDTAIYYCRAWGTGTISTMYWGQGTQV  
 TVSS (SEQ. ID NO:123);

QVKLEESGGGLVQAGASLRLSCVASESIFGFNTMGWYRQAPGNERELVASISNSKRT  
 MYADSVKGRFTISRDNKNTVNLQMNNLKPEDTAVYYCRAWGIITSATVYWGQGTQV  
 TVSS (SEQ. ID NO:124);

QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCATSTRTVSSAVMAWFRQAPEKERDFVGFISNSGSV  
 YYDDSVKGRFTISRDNKNTVYQLQMNSLKPEDTAVYYCAIIWRTSDLTGRFNTWGQGT  
 QVTVSS (SEQ. ID NO:125);

QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSSGMINTMGWYRQAPGKQRELVARRSTGG  
 TTNYADSVKGRFTISRDDANNTVYQLQMNSLKPEDTAVYYCAIIWRTSDLTGRFNTWGQ  
 GTQVTVSS (SEQ. ID NO:126); и

по существу идентичных им последовательностей.

19. Антитело или его фрагмент, выбранные из группы, состоящей из:

VH SEQ. ID NO: 39 и VL SEQ. ID NO: 38;  
 VH SEQ. ID NO: 41 и VL SEQ. ID NO: 40;  
 VH SEQ. ID NO: 43 и VL SEQ. ID NO: 42;  
 VH SEQ. ID NO: 45 и VL SEQ. ID NO: 44;

VH SEQ. ID NO: 47 и VL SEQ. ID NO: 46;  
VH SEQ. ID NO: 73 и VL SEQ. ID NO: 74;  
VH SEQ. ID NO: 75 и VL SEQ. ID NO: 76;  
VHH SEQ. ID NO: 119;  
VHH SEQ. ID NO: 120;  
VHH SEQ. ID NO: 121;  
VHH SEQ. ID NO: 122;  
VHH SEQ. ID NO: 123;  
VHH SEQ. ID NO: 124;  
VHH SEQ. ID NO: 125;  
VHH SEQ. ID NO: 126; и

последовательностей, обладающих с ними идентичностью 85 % или более.

20. Антитело или фрагмент по п. 19, где идентичность последовательности составляет 90 % или более, 95 % или более или 98 % или более.

21. Антитело по п. 1, содержащее последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи SEQ. ID NO: 1, 2 и 11 и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи SEQ. ID NO: 3, 4 и 5; где антитело связывается с эпитопом в домене IgL1 и не связывается в домене IgL2 AXL.

22. Антитело по п. 1, содержащее последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи SEQ. ID NO: 1, 6 и 11 и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи SEQ. ID NO: 7, 8 и 5; где антитело связывается с эпитопом в домене IgL1 и не связывается в домене IgL2 AXL.

23. Антитело по п. 1, содержащее последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи SEQ. ID NO: 9, 10 и 11 и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи SEQ. ID NO: 12, 13 и 14.

24. Антитело по п. 1, содержащее последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи SEQ. ID NO: 15, 16 и 11 и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи SEQ. ID NO: 17, 18 и 19.

25. Антитело по любому из пп. 1-24, которое не конкурирует с Gas6 за связывание с AXL.

26. Антитело по п. 5, являющееся бипаратопным и включающее sdAb001/005 или sdAb 001/006.

27. Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), содержащий антитело по любому из пп. 1-24, конъюгированное с лекарственной частью.

28. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 27, где лекарственная часть представляет собой противораковое лекарственное средство.

29. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 27, где лекарственная часть представляет собой DM1.

30. Фармацевтическая композиция, содержащая ADC по п. 22 и фармацевтически приемлемый эксципиент.

31. Слитый белок, содержащий антитело по п. 1 и Fc IgG1 человека.

32. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело по любому из пп. 1-24.

33. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 32.

34. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п. 33.

35. Клетка-хозяин по п. 34, представляющая собой рекомбинантную микробную клетку-хозяина или клетку млекопитающего.

36. Клетка-хозяин по п. 34 или 35, которая продуцирует антитело по п. 1.

37. Гибридома или организм, продуцирующий антитело по п. 1.

38. Антитело по любому из пп. 1-24, иммобилизованное на поверхности.

39. Антитело по любому из пп. 1-24, соединенное с карго-молекулой.

40. Антитело по п. 39, где карго-молекула представляет собой детектируемый агент, терапевтический агент, лекарственное средство, пептид, фермент, фактор роста, цитокин, рецептор-ловушку, его антитело, химическое соединение, углеводную группу, молекулу на основе ДНК, цитотоксический агент или вирусный вектор.

41. Антитело по п. 39, где размер карго-молекулы составляет от около 1 кДа до около 500 кДа.

42. Антитело по п. 40, где карго-молекула загружена в одну или более липосому или наноноситель.

43. Антитело по п. 42, где наноноситель содержит одну или более наночастицу, нанопровод, нанотрубку или квантовую точку.

44. Антитело по п. 40, где вирусный вектор представляет собой аденовирусный, лентивирусный или ретровирусный вектор.

45. Антитело по п. 40, где молекула на основе ДНК содержит антисмысловый олигонуклеотид, микроРНК, малую интерферирующую РНК (миРНК) или плазмиду.

46. Антитело по любому из пп. 39-42, где карго-молекула представляет собой цитотоксический агент.

47. Способ обнаружения AXL *in vitro*, включающий:

а) приведение образца в контакт с одним или более чем одним выделенным или очищенным антителом по любому из пп. 1-24, соединенным с детектируемым агентом; и

б) обнаружение детектируемого агента, соединенного с антителом, связанным с AXL, в образце.

48. Способ по п. 47, где способ обнаруживает AXL в циркулирующих клетках, и образец представляет собой образец сыворотки крови.

49. Способ по п. 47 или 48, где стадию обнаружения выполняют с помощью оптической визуализации, иммуногистохимии, молекулярной диагностической визуализации или ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ).

50. Способ обнаружения экспрессии AXL у субъекта *in vivo*, включающий:

а) введение субъекту одного или более антител по любому из пп. 1-24, соединенного с детектируемым агентом; и

б) обнаружение детектируемого агента, соединенного с антителом, связанным с AXL.

51. Способ по п. 47, где стадию обнаружения выполняют с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) или флуоресцентной визуализации.

52. Способ переноса представляющей интерес молекулы в клетки, экспрессирующие AXL, включающий введение субъекту одного или более антител по п. 1, соединенных с представляющей интерес молекулой, где антитело доставляет представляющую интерес молекулу в клетки субъекта, экспрессирующие AXL.

53. Способ по п. 52, где представляющая интерес молекула представляет собой детектируемый агент, терапевтический агент, лекарственное средство, пептид, фермент, фактор роста, цитокин, рецептор-ловушку, его антитело, химическое соединение, углеводную группу, молекулу на основе ДНК, цитотоксический агент или вирусный вектор.

54. Способ по п. 52, где представляющая интерес молекула загружена в одну или более липосому или наноноситель.

55. Способ по п. 54, где наноноситель содержит одну или более наночастицу, нанопровод, нанотрубку или квантовую точку.

56. Способ по любому из пп. 52-55, где представляющая интерес молекула содержит цитотоксический агент.

57. Способ по п. 56, где цитотоксический агент предназначен для применения в

лечении рака.

58. Способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту противоракового конъюгата антитело-лекарственное средство, содержащего антитело по любому из пп. 1-24.

59. Способ лечения рака, включающий проведение клеточной терапии, терапии химерным антигенным рецептором (CAR-T-клетки) или онколитическим вирусом, содержащими антитело по любому из пп. 1-24.

60. Применение антитела по любому из пп. 1-24 для получения лекарственного средства, содержащего противораковый конъюгат антитело-лекарственное средство, для лечения рака у нуждающегося в этом субъекта.

61. Применение противоракового конъюгата антитело-лекарственное средство, содержащего антитело по любому из пп. 1-24, для лечения рака у нуждающегося в этом субъекта.

62. Применение антитела по любому из пп. 1-24 для получения клеточной терапии, терапии химерным антигенным рецептором (CAR-T-клетки) или онколитическим вирусом.

RU 2020113027 A

RU 2020113027 A