



(51) МПК
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)
C07K 14/52 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2013103335, 24.06.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
24.06.2011Дата регистрации:
30.06.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
25.06.2010 US 61/358,513;
25.06.2010 EP 10167291.3

(43) Дата публикации заявки: 27.07.2014 Бюл. № 21

(45) Опубликовано: 30.06.2017 Бюл. № 19

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 25.01.2013(86) Заявка РСТ:
EP 2011/060628 (24.06.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/161244 (29.12.2011)Адрес для переписки:
119019, Москва, Гоголевский бульвар, дом 11,
"Тоулингз Интернэшнл Инк.", пат. пов. О.Ю.
Карпенко

(72) Автор(ы):

РУФФИНИ Пьер Адельки (IT),
БОГЕН Бъярне (NO),
ФРЕДРИКСЕН Агнете Брунсвик (NO)(73) Патентообладатель(и):
ВЭКСИБОДИ АС (NO)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: FREDRIKSEN AGNETE B. et al.,
Chemokine-idiotype fusion DNA vaccines are
potentiated by bivalence and xenogeneic
sequences, BLOOD, 15.09.2007, Vol.110, NO.6,
PP.1797-1805. US 5646016 A, 08.07.1997.
SCHALL T. et al., Human Macrophage
Inflammatory Protein α (MIP-1 α and MIP-1 β)
Chemokines Attract Distinct Populations of
Lymphocytes, J. Exp. Med., 1993, (см. прод.)

R U 2 6 2 4 0 4 1 C 2

(54) КОНСТРУКЦИИ ГОМОДИМЕРНЫХ БЕЛКОВ

(57) Формула изобретения

1. Молекула нукleinовой кислоты, кодирующая аминокислотную цепь, которая может формировать димерный белок, содержащий две аминокислотные цепи, где каждая аминокислотная цепь содержит нацеливающую группу, содержащую аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% идентичностью последовательности 5-70 из SEQ ID NO: 1, и антигенную группу, где нацеливающая группа и антигенная группа соединены через мотив для димеризации, при этом указанный димерный белок подходит для использования в качестве вакцины.

2. Молекула нукleinовой кислоты по п. 1, где указанная нацеливающая группа содержит аминокислоты 3-70 из SEQ ID NO: 1.

3. Молекула нукleinовой кислоты по п. 1, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 5-70 из SEQ ID NO: 1.

4. Молекула нукleinовой кислоты по п. 1, где указанная нацеливающая группа

RU
2624041
C2
1
04042622
RU

состоит из аминокислот 3-70 из SEQ ID NO: 1.

5. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 1-70 из SEQ ID NO: 1.

6. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где антигенная группа представляет собой антигенный scFv.

7. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где линкер, такой как линкер (G₄S)₃, соединяет V_H и V_L в антигенном scFv.

8. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где антигенный scFv происходит из моноклонального Ig, продуцируемого клетками миеломы или лимфомы.

9. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где антигенная группа представляет собой теломеразу или ее функциональную часть.

10. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 9, где указанная теломераза представляет собой hTERT.

11. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где антигенная группа происходит из бактерии.

12. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 11, где происходящая из бактерии антигенная группа выбрана из антигена туберкулеза и антигена бруцеллеза.

13. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где антигенная группа происходит из вируса.

14. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 13, где происходящая из вируса антигенная группа происходит из HIV.

15. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 14, где происходящая из HIV антигенная группа происходит из gp120 или Gag.

16. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 13, где антигенная группа выбрана из списка, состоящего из гемагглютинина (HA), нуклеопротеина и антигена M2 вируса гриппа; антигена гликопротеина D вируса простого герпеса 2; и антигена вируса папилломы человека, такого как выбранный из списка, состоящего из E1, E2, E6, E7, L1 и L2.

17. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где антигенная группа представляет собой ассоциированный со злокачественной опухолью или специфический для злокачественной опухоли антиген.

18. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 17, где антигенная группа злокачественной опухоли представляет собой антиген меланомы, такой как антигены меланомы тирозиназа, TRP-1 или TRP2.

19. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 17, где антигенная группа злокачественной опухоли представляет собой антиген рака предстательной железы, такой как антиген рака предстательной железы PSA.

20. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 17, где антигенная группа злокачественной опухоли происходит из вируса папилломы человека, например, антиген рака шейки матки, выбранный из списка, состоящего из E1, E2, E4, E6 и E7.

21. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где мотив для димеризации содержит шарнирную область и, необязательно, другой домен, облегчающий димеризацию, такой как иммуноглобулиновый домен, необязательно присоединенный через линкер.

22. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 21, где шарнирная область происходит из Ig, например, происходит из IgG3.

23. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 21, где шарнирная область обладает способностью формировать одну, две или несколько ковалентных связей.

24. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 21, где ковалентная связь представляет собой дисульфидный мостик.

25. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 21, где иммуноглобулиновый домен мотива

2 6 2 4 0 4 1
R U C 2

для димеризации представляет собой карбоксиконцевой домен С или последовательность, по существу гомологичную указанному домену С.

26. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 25, где карбоксиконцевой домен С происходит из IgG.

27. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 21, где иммуноглобулиновый домен мотива для димеризации обладает способностью к гомодимеризации.

28. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 21, где указанный иммуноглобулиновый домен обладает способностью к гомодимеризации посредством нековалентных взаимодействий.

29. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 28, где указанные нековалентные взаимодействия представляют собой гидрофобные взаимодействия.

30. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где указанный домен для димеризации не содержит домен CH2.

31. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где мотив для димеризации состоит из шарнирных экзонов h1 и h4, соединенных через линкер с доменом C_H3 IgG3 человека.

32. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 21-31, где указанный линкер представляет собой линкер G₃S₂G₃SG.

33. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где указанная антигенная группа и мотив для димеризации соединены через линкер, такой как линкер GLSGL.

34. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где указанная нацеливающая группа содержит аминокислоты 1-70 из SEQ ID NO: 2.

35. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где указанная нацеливающая группа содержит аминокислоты 3-70 из SEQ ID NO: 2.

36. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 5-70 из SEQ ID NO: 2.

37. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 3-70 из SEQ ID NO: 2.

38. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-4, 6-31, 33-36, где каждая указанная нацеливающая группа состоит из не более чем 68 аминокислот, например, из 68, 67 или 66 аминокислот.

39. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-4, 6-31, 33-36, где указанная нацеливающая группа не содержит аминокислотную последовательность AP в положениях 1 и 2 нацеливающей группы.

40. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, кодирующая первый димерный белок, обладающий увеличенной аффинностью по сравнению с аффинностью второго димерного белка, где второй димерный белок отличается от указанного первого димерного белка только обладанием нацеливающей группой, состоящей из аминокислот 1-70 из SEQ ID NO: 2; где увеличенная аффинность имеет место в отношении любого из рецепторов хемокинов, выбранного из CCR1, CCR3 и CCR5.

41. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-40, содержащаяся в векторе.

42. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-41, составленная для введения пациенту для индукции продукции димерного белка у указанного пациента.

43. Молекула нуклеиновой кислоты по пп. 1-42 для применения в качестве вакцины.

44. Димерный белок из двух идентичных аминокислотных цепей, где каждая аминокислотная цепь содержит нацеливающую группу, содержащую аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% идентичностью последовательности 5-70 из SEQ ID NO: 1, и антигенную группу, где нацеливающая группа и антигенная группа соединены через мотив для димеризации, при этом указанный димерный белок подходит для использования в качестве вакцины.

45. Димерный белок по п. 44, где указанная нацеливающая группа содержит

Р У
2 6 2 4 0 4 1
С 2
1 0 4 0 4 2 1
С 2

аминокислоты 3-70 из SEQ ID NO: 1.

46. Димерный белок по п. 44, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 5-70 из SEQ ID NO: 1.

47. Димерный белок по п. 44, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 3-70 из SEQ ID NO: 1.

48. Димерный белок по п. 44, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 1-70 из SEQ ID NO: 1.

49. Димерный белок по п. 44, где антигенная группа представляет собой антигенный scFv.

50. Димерный белок по п. 44, где линкер, такой как линкер $(G_4S)_3$, соединяет VH и VL в антигennом scFv.

51. Димерный белок по п. 44, где антигенный scFv происходит из моноклонального Ig, продуцируемого клетками миеломы или лимфомы.

52. Димерный белок по п. 44, где антигенная группа представляет собой теломеразу или ее функциональную часть.

53. Димерный белок по п. 52, где указанная теломераза представляет собой hTERT.

54. Димерный белок по п. 44, где антигенная группа происходит из бактерии.

55. Димерный белок по п. 54, где происходящая из бактерии антигенная группа выбрана из антигена туберкулеза и антигена бруцеллеза.

56. Димерный белок по п. 44, где антигенная группа происходит из вируса.

57. Димерный белок по п. 56, где происходящая из вируса антигенная группа происходит из HIV.

58. Димерный белок по п. 57, где происходящая из HIV антигенная группа происходит из gp120 или Gag.

59. Димерный белок по п. 56, где антигенная группа выбрана из списка, состоящего из гемагглютинина (НА), нуклеопротеина и антигена M2 вируса гриппа; антигена гликопротеина D вируса простого герпеса 2; и антигена вируса папилломы человека, такого как выбранный из списка, состоящего из E1, E2, E6, E7, L1 и L2.

60. Димерный белок по п. 44, где антигенная группа представляет собой ассоциированный со злокачественной опухолью или специфический для злокачественной опухоли антиген.

61. Димерный белок по п. 60, где антигенная группа злокачественной опухоли представляет собой антиген меланомы, такой как антигены меланомы тирозиназа, TRP-1 или TRP2.

62. Димерный белок по п. 60, где антигенная группа злокачественной опухоли представляет собой антиген рака предстательной железы, такой как антиген рака предстательной железы PSA.

63. Димерный белок по п. 60, где антигенная группа злокачественной опухоли происходит из вируса папилломы человека, например, антиген рака шейки матки, выбранный из списка, состоящего из E1, E2, E4, E6 и E7.

64. Димерный белок по п. 44, где мотив для димеризации содержит шарнирную область и, необязательно, другой домен, облегчающий димеризацию, такой как иммуноглобулиновый домен, необязательно присоединенный через линкер.

65. Димерный белок по п. 64, где шарнирная область происходит из Ig, например, происходит из IgG3.

66. Димерный белок по п. 64, где шарнирная область обладает способностью формировать одну, две или несколько ковалентных связей.

67. Димерный белок по п. 66, где ковалентная связь представляет собой дисульфидный мостик.

68. Димерный белок по п. 64, где иммуноглобулиновый домен мотива для димеризации

Р
У
2
6
2
4
0
4
1
С
2
1
4
0
4
2
6
2
4
0
4
1
С
2

представляет собой карбоксиконцевой домен С или последовательность, по существу гомологичную указанному домену С.

69. Димерный белок по п. 68, где карбоксиконцевой домен С происходит из IgG.

70. Димерный белок по п. 64, где иммуноглобулиновый домен мотива для димеризации обладает способностью к гомодимеризации.

71. Димерный белок по п. 64, где указанный иммуноглобулиновый домен обладает способностью к гомодимеризации посредством нековалентных взаимодействий.

72. Димерный белок по п. 71, где указанные нековалентные взаимодействия представляют собой гидрофобные взаимодействия.

73. Димерный белок по п. 44, где указанный домен для димеризации не содержит домен CH2.

74. Димерный белок по п. 44, где мотив для димеризации состоит из шарнирных экзонов h1 и h4, соединенных через линкер с доменом CH3 IgG3 человека.

75. Димерный белок по любому из пп. 64-74, где указанный линкер представляет собой линкер G3S2G3SG.

76. Димерный белок по п. 44, где указанная антигенная группа и мотив для димеризации соединены через линкер, такой как линкер GLSGL.

77. Димерный белок по п. 44, где указанная нацеливающая группа содержит аминокислоты 3-70 из SEQ ID NO: 2.

78. Димерный белок по п. 44, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 5-70 из SEQ ID NO: 2.

79. Димерный белок по п. 44, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 3-70 из SEQ ID NO: 2.

80. Димерный белок по п. 44, где указанная нацеливающая группа состоит из аминокислот 1-70 из SEQ ID NO: 2.

81. Димерный белок по любому из пп. 44-47, 49-73, 75-79, где каждая указанная нацеливающая группа состоит из не более чем 68 аминокислот, например, из 68, 67 или 66 аминокислот.

82. Димерный белок по любому из пп. 44-47, 49-73, 75-79, где указанная нацеливающая группа не содержит аминокислотную последовательность AP в положениях 1 и 2 нацеливающей группы.

83. Димерный белок по п. 44, который представляет собой первый димерный белок, обладающий увеличенной аффинностью по сравнению с аффинностью второго димерного белка, где второй димерный белок отличается от указанного первого димерного белка только наличием нацеливающей группы, состоящей из аминокислот 1-70 из SEQ ID NO: 2; где увеличенная аффинность имеет место в отношении любого из рецепторов хемокинов, выбранного из CCR1, CCR3 и CCR5.

84. Димерный белок по п. 44 для применения в качестве лекарственного средства.

85. Фармацевтическая композиция для применения в качестве вакцины, содержащая димерный белок по любому из пп. 44-83 или молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-43 и фармацевтически приемлемый носитель и/или адъювант.

86. Клетка-хозяин для продукции димерного белка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-43, кодирующую аминокислотную цепь, которая может формировать димерный белок, содержащий две аминокислотные цепи, где каждая аминокислотная цепь содержит нацеливающую группу, содержащую аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере 80% идентичностью последовательности 5-70 из SEQ ID NO: 1, и антигенную группу, где нацеливающая группа и антигенная группа соединены через мотив для димеризации, при этом указанный димерный белок подходит для использования в качестве вакцины.

87. Способ получения димерного белка по любому из пп. 44-83, где способ включает:

- а) трансфекцию популяции клеток молекулой нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-43;
- б) культивирование указанной популяции клеток;
- в) сбор и очистку димерного белка, экспрессированного из указанной популяции клеток.

88. Вакцина против злокачественной опухоли или инфекционного заболевания, содержащая иммунологически эффективное количество димерного белка по любому из пп. 44-83 или молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-43, кодирующей мономерный белок, который может формировать димерный белок, где указанная вакцина является способной запускать как Т-клеточный, так и В-клеточный иммунный ответ, и где указанный димерный белок содержит антигенную группу, специфическую для указанных злокачественной опухоли или инфекционного заболевания.

89. Вакцина по п. 88, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель и/или адьювант.

90. Вакцина по п. 88 или 89, где указанная злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому или лимфому, злокачественную меланому, HPV-индуцированные злокачественные опухоли, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак легкого, рак яичника и/или рак печени.

91. Вакцина по п. 88 или 89, где указанное инфекционное заболевание выбрано из списка, состоящего из туберкулеза, гриппа, герпеса, CMV, HPV, HBV, HIV, бруцеллеза и/или HSV-2.

92. Способ лечения злокачественной опухоли или инфекционного заболевания у пациента, где способ включает введение нуждающемуся в этом пациенту димерного белка по любому из пп. 44-83 или молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-43, кодирующей мономерный белок, который может формировать димерный белок, где указанный димерный белок содержит антигенную группу, специфическую для указанных злокачественной опухоли или инфекционного заболевания.

(56) (продолжение):

Vol.177, pp.1821-1825. FREDRIKSEN AGNETE B., et al., DNA Vaccines Increase Immunogenicity of Idiotypic Tumor Antigen by Targeting Novel Fusion Proteins to Antigen-Presenting Cells, Molecular therapy, 2006, Vol.13, No.4, pp.776-785. RU 2343195 C2, 10.01.2009.