



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21), (22) Заявка: 2005137325/13, 26.05.2004

(30) Конвенционный приоритет:
31.05.2003 EP 03 01 2134.7
31.05.2003 EP 03 01 2133.9

(43) Дата публикации заявки: 10.09.2006 Бюл. № 25

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу:
30.11.2005

(86) Заявка РСТ:
EP 2004/005687 (26.05.2004)

(87) Публикация РСТ:
WO 2004/106383 (09.12.2004)

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):
МИКРОМЕТ АГ (DE)

(72) Автор(ы):
КУФЕР Петер (DE),
БЕРРИ Мира (DE),
ОФФНЕР Соня (DE),
БРИШВАЙН Клаус (DE),
ВОЛЬФ Андреас (DE),
РАУМ Тобиас (DE),
КОЛЬАЙЗЕН Биргит (DE),
ЛЕНККЕРИ-ШУТЦ Улла (DE),
БОЙЕРЛЕ Патрик (DE)

(74) Патентный поверенный:
Егорова Галина Борисовна

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ КОНСТРУКТ, СПЕЦИФИЧНЫЙ К ЕРСАМ

(57) Формула изобретения

1. Фармацевтическая композиция, содержащая биспецифичный одноцепочечный конструктор антитела, при этом указанный конструктор содержит, по меньшей мере, два домена, или состоит из них, при этом один из указанных доменов связывается с антигеном ЕрсАМ человека, а второй домен связывается с антигеном CD3 человека, при этом указанный домен связывания, специфичный к ЕрсАМ, включает, по меньшей мере, одну область CDR-H3, содержащую последовательность аминокислот NXD, предпочтительно, в положении 102-104 в SEQ ID NO: 80, 88 и 96, или предпочтительно в положении 106-108 в SEQ ID NO: 84 и 92, где X представляет собой ароматическую аминокислоту.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой X представляет собой W или Y.

3. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой CDR-H3 содержит, по меньшей мере, 9 аминокислотных остатков.

4. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой указанный домен связывания, специфичный к ЕрсАМ, имеет значение K_D , большее, чем $5 \cdot 10^{-9}$ М.

5. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой указанный домен связывания, специфичный к ЕрсАМ, имеет значение K_D в пределах между $1 \cdot 10^{-7}$ и $5 \cdot 10^{-9}$ М, а указанный домен связывания, специфичный к CD3, имеет значение K_D в пределах между $1 \cdot 10^{-6}$ и $5 \cdot 10^{-9}$ М.

6. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой указанный домен связывания,

специфичный к CD3, имеет значение K_D , большее, чем 10^{-7} М.

7. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой область CDR-H3 содержит, по меньшей мере, 14 аминокислот.

8. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой домены цепи V_H , специфичные к антигену ЕpCAM человека, выбираются из группы, состоящей из

(а) последовательности аминокислот, как показано в любой из SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92 и SEQ ID NO:96;

(b) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, как показано в SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 91 и SEQ ID NO: 95;

(с) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, гибридизующейся с комплементарной цепью последовательности нуклеиновых кислот, как определено в (b), при строгих условиях гибридизации;

(d) последовательности аминокислот кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, которая является вырожденной как результат генетического кода для нуклеотидной последовательности любого из (b) и (с).

9. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой домены цепи V_L , специфичные к антигену ЕpCAM человека, выбираются из группы, состоящей из

(а) последовательности аминокислот, как показано в любой из SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 94 и SEQ ID NO:98;

(b) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, как показано в SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 93 и SEQ ID NO: 97;

(с) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, гибридизующейся с комплементарной цепью последовательности нуклеиновых кислот, как определено в (b), при строгих условиях гибридизации;

(d) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, которая является вырожденной как результат генетического кода для нуклеотидной последовательности из любого (b) и (с).

10. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой домен связывания, специфичный к антигену CD3, получают из антитела, выбранного из группы, состоящей из X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111-409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII-46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW2-4B6, OKT3D, M-T301, SMC2, WT3I и F101.01.

11. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой указанный биспецифичный одноцепочечный конструктор антитела содержит последовательность аминокислот, выбранных из группы

(а) последовательности аминокислот, как показано в любой из SEQ ID NO: 2, 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 36, 39, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 и 60;

(b) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, как показано в любой из SEQ ID NO: 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 29, 35, 38, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 и 59;

(с) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, гибридизующихся с комплементарной цепью последовательности нуклеиновых кислот, как определено в (b), при строгих условиях гибридизации;

(d) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, которая является вырожденной как результат генетического кода для нуклеотидной последовательности по любому из (b) и (с).

12. Фармацевтическая композиция, содержащая биспецифичный одноцепочечный конструктор антитела, при этом указанный конструктор содержит, по меньшей мере, два домена, или состоит из них, при этом один из указанных, по меньшей мере, двух доменов специфично связывается с антигеном ЕpCAM человека, а второй домен связывается с антигеном CD3 человека, при этом указанный домен связывания, специфичный к ЕpCAM, содержит, по меньшей мере, одну область CDR-H3, по меньшей мере, из 9 аминокислотных остатков, и в которой указанный домен связывания, специфичный к ЕpCAM, имеет

значение K_D , большее, чем $5 \cdot 10^{-9}$ М.

13. Фармацевтическая композиция по п.12, в которой указанный домен связывания, специфичный к CD3, имеет значение K_D , большее, чем 10^{-7} М.

14. Фармацевтическая композиция по п.12, в которой область CDR-H3 содержит, по меньшей мере, 14 аминокислот.

15. Фармацевтическая композиция по п.12, в которой домены цепи V_H , специфичные к антигену ЕpCAM человека, выбираются из группы, состоящей из

(а) последовательности аминокислот, как показано в любой из SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92 и SEQ ID NO:96;

(b) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, как показано в SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 91 и SEQ ID NO: 95;

(с) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, гибридизирующей с комплементарной цепью последовательности нуклеиновых кислот, как определено в (b), при строгих условиях гибридизации;

(d) последовательности аминокислот кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, которая является вырожденной как результат генетического кода для нуклеотидной последовательности любого из (b) и (с).

16. Фармацевтическая композиция по п.12, в которой домены цепи V_L , специфичные к антигену ЕpCAM человека, выбираются из группы, состоящей из

(а) последовательности аминокислот, как показано в любой из SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 94 и SEQ ID NO:98;

(b) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, как показано в SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 93 и SEQ ID NO: 97;

(с) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, гибридизирующей с комплементарной цепью последовательности нуклеиновых кислот, как определено в (b), при строгих условиях гибридизации;

(d) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, которая является вырожденной как результат генетического кода для нуклеотидной последовательности из любого (b) и (с).

17. Фармацевтическая композиция по п.12, в которой домен связывания, специфичный к антигену CD3, получают из антитела, выбранного из группы, состоящей из X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111-409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII-46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW2-4B6, OKT3D, M-T301, SMC2, WT31 и F101.01.

18. Фармацевтическая композиция по п.12, в которой указанный биспецифичный одноцепочечный конструктор антитела содержит последовательность аминокислот, выбранных из группы

(а) последовательности аминокислот, как показано в любой из SEQ ID NO: 2, 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 36, 39, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 и 60;

(b) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, как показано в любой из SEQ ID NO: 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 29, 35, 38, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 и 59;

(с) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, гибридизирующих с комплементарной цепью последовательности нуклеиновых кислот, как определено в (b), при строгих условиях гибридизации;

(d) последовательности аминокислот, кодируемой последовательностью нуклеиновых кислот, которая является вырожденной как результат генетического кода для нуклеотидной последовательности по любому из (b) и (с).

19. Фармацевтическая композиция, содержащая последовательность нуклеиновых кислот, кодирующую биспецифичный одноцепочечный конструктор антитела, определенный в любом из пп.1-18.

20. Фармацевтическая композиция, содержащая вектор, который содержит последовательность нуклеиновых кислот, определенную в п.19.

21. Фармацевтическая композиция по п.20, в которой указанный вектор дополнительно содержит регуляторную последовательность, которая является оперативно связанной с указанной последовательностью нуклеиновых кислот, определенной в п.19.

22. Фармацевтическая композиция по п.20, в которой указанный вектор представляет собой вектор экспрессии.

23. Фармацевтическая композиция по п.21, в которой указанный вектор представляет собой вектор экспрессии.

24. Фармацевтическая композиция, содержащая хозяина, трансформированного или трансфицированного вектором, определенным в любом из пп.20-23.

25. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1, 12, 19, 20 или 24, дополнительно содержащая белковое соединение, способное обеспечить сигнал активирования для иммунных эффекторных клеток.

26. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1, 12, 19, 20 или 24, в которой фармацевтическая композиция является термически стабильной при $\geq 37^{\circ}\text{C}$.

27. Способ получения фармацевтической композиции по любому из пп.1-26, где указанный способ включает в себя культивирование хозяина, как определено в п.24 при условиях, дающих возможность экспрессии биспецифичного одноцепочечного конструктора антитела по любому из пп.1-18, и извлечение полученного биспецифичного одноцепочечного конструктора антитела из культуры.

28. Применение биспецифичного одноцепочечного конструктора антитела, как определено в любом из пп.1-18, для получения фармацевтической композиции для профилактики, лечения или облегчения опухолевого заболевания.

29. Применение последовательности нуклеиновых кислот, как определено в п. 19, для получения фармацевтической композиции для профилактики, лечения или облегчения опухолевого заболевания.

30. Применение вектора, как определено в любом из пп.20-23, для получения фармацевтической композиции для профилактики, лечения или облегчения опухолевого заболевания.

31. Применение хозяина, как определено в п.24 и/или продуцирующего в способе по п.27, для получения фармацевтической композиции для профилактики, лечения или облегчения опухолевого заболевания.

32. Применение по любому из пп.28-31, где указанное опухолевое заболевание представляет собой эпителиальный рак или минимальный остаточный рак.

33. Способ профилактики, лечения или облегчения опухолевого заболевания, включающий в себя стадию введения субъекту, нуждающемуся в такой профилактике, лечении или облегчении, фармацевтической композиции по любому из пп.1-26.

34. Способ по п.33, в котором указанный субъект представляет собой человека.

35. Способ по п.33 или 34, где указанное опухолевое заболевание представляет собой эпителиальный рак или минимальный остаточный рак.

36. Набор, содержащий биспецифичный одноцепочечный конструктор антитела, определенный в любом из пп.1-18, последовательность нуклеиновых кислот, определенную в п.19, вектор, определенный в любом из пп.20-23, хозяина, как определено в п.24 и/или продуцирующего в способе по п.27.