



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2012157572/10, 27.05.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
28.05.2010 US 61/349,451

(43) Дата публикации заявки: 10.07.2014 Бюл. № 19

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 28.12.2012(86) Заявка РСТ:
EP 2011/058769 (27.05.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/147981 (01.12.2011)

Адрес для переписки:

109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент", Е.В.Воробьевой

(71) Заявитель(и):

МЕН-ЭнЭрЖ СА (CH)

(72) Автор(ы):

БОССАН Тьерри (FR),
БАХ Даниэль (CH),
ШРАТТЕНХОЛЬЦ Андре (DE)(54) **ИЗОФОРМЫ НЕЙРЕГУЛИНА, ПОЛИПЕПТИДЫ НЕЙРЕГУЛИНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(57) Формула изобретения

1. Полипептид, который содержит или состоит из EGF-подобного домена (EGFLD1), выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 140-146, причем данный EGF-подобный домен может содержать до 5 делеций, вставок и/или мутаций отдельных аминокислот, при этом данный EGF-подобный домен необязательно содержит до 30 дополнительных аминокислот на своем С- и/или N-конце.

2. Полипептид по п.1, при этом EGF-подобный домен (EGFLD1) выбран из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 147-153, причем данный EGF-подобный домен может содержать до 13 делеций, вставок и/или мутаций отдельных аминокислот.

3. Полипептид по п.1, при этом полипептид дополнительно содержит по меньшей мере еще один EGF-подобный домен, каждый из которых выбран независимо из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 140-153, причем каждый дополнительный EGF-подобный домен может содержать до 13 делеций, вставок и/или мутаций отдельных аминокислот.

4. Полипептид по п.1, при этом полипептид содержит еще по меньшей мере второй EGF-подобный домен (EGFLD2), выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 140-153, причем второй EGF-подобный домен может содержать до 13 делеций, вставок и/или мутаций отдельных аминокислот.

5. Полипептид по п.1, при этом полипептид дополнительно содержит гепарин-связывающий домен (HBD).

6. Полипептид по п.5, при этом гепарин-связывающий домен имеет аминокислотную

последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 154-157, причем гепарин-связывающий домен может содержать до 12 делеций, вставок и/или мутаций отдельных аминокислот.

7. Полипептид по п.5, при этом гепарин-связывающий домен находится на N-конце или C-конце EGF-подобного домена.

8. Полипептид по п.4, при этом полипептид дополнительно содержит линкер между EGF-подобным доменом EGFLD1 и вторым EGF-подобным доменом EGFLD2, между любыми двумя или несколькими соседними EGF-подобными доменами, между гепарин-связывающим доменом и EGF-подобным доменом EGFLD1 и/или между гепарин-связывающим доменом и вторым EGF-подобным доменом EGFLD2.

9. Полипептид по п.8, при этом полипептид имеет следующую структуру:

EGFLD1-линкер-EGFLD2,

HBO-линкер-EGFLD1-линкер-EGFLD2,

EGFLD1-линкер-HBD-линкер-EGFLD2, или

EGFLD1-линкер-EGFLD2-линкер-HBD.

10. Полипептид по п.8, при этом каждый линкер выбран индивидуально из ковалентной связи, химического линкера и полипептида, причем полипептид предпочтительно имеет длину до 45 аминокислот.

11. Полипептид по п.10, при этом линкер имеет аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 158, причем линкер может содержать до 15 делеций, вставок и/или мутаций отдельных аминокислот.

12. Полипептид по п.1, при этом полипептид специфически связывается с рецептором erbB3 (SEQ ID NO: 159) и/или рецептором erbB4 (SEQ ID NO: 160).

13. Фармацевтическая композиция, включающая полипептид по любому из пп.1-12.

14. Фармацевтическая композиция по п.13, дополнительно включающая лекарство для лечения неврологического заболевания, предпочтительно лекарство, выбранное из группы, состоящей из соединений, влияющих на метаболизм катехоламинов, ингибиторов ацетилхолинэстеразы, ингибиторов MAO-B или COMT, блокаторов каналов типа мемантина, агонистов дофаминовых или серотониновых рецепторов, антагонистов дофаминовых или серотониновых рецепторов, ингибиторов обратного захвата катехоламинов или серотонина, антипсихотических лекарств, препаратов для лечения болезни Альцгеймера или Паркинсона и лекарств против шизофрении, биполярного психоза или депрессии.

15. Полипептид по любому из пп.1-12 для применения при профилактике или лечении неврологического заболевания.

16. Полипептид по п.15, при этом неврологическое заболевание выбрано из группы шизофрении, в частности когнитивных аспектов шизофрении, биполярного психоза и депрессии; болезни Паркинсона; болезни Альцгеймера; эпилепсии; рассеянного склероза (MS); бокового амиотрофического склероза (ALS); инсульта; черепно-мозговой травмы и спинномозговой травмы.

17. Применение полипептида по любому из пп.1-12 или полинуклеотида, кодирующего данный полипептид, для индуцирования дифференцировки клеток.

18. Антитело, способное специфически связываться с белком, выбранным из группы, состоящей из 14-3-3-дзета (SEQ ID NOs: 58, 133), 14-3-3-эпсилон (SEQ ID NOs: 59, 134), N-этилмалеимид-чувствительного фактора (SEQ ID NOs: 50, 124); альдолазы A, фруктозобифосфатной (SEQ ID NOs: 2, 68); альдолазы C, фруктозобифосфатной (SEQ ID NOs: 3, 69); триозофосфатизомеразы 1 (SEQ ID NOs: 4, 65, 70); подобный глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе, изоформы 1 (SEQ ID NOs: 5, 71, 72); енолазы-1, альфа, не нейронной (SEQ ID NOs: 6, 73); енолазы-2, гамма, нейронной (SEQ ID NOs: 7, 74); лактатдегидрогеназы B (SEQ ID NOs: 8, 75); глицерофосфатдегидрогеназы 2,

митохондриальной (SEQ ID NOs: 9, 76, 77); глутамат-аммиак-лигазы (глутаминсинтетазы) (SEQ ID NOs: 10, 78, 79); дигидролипоамид-S-ацетилтрансферазы (компонента E2 пируватдегидрогеназного комплекса) (SEQ ID NOs: 11, 80, 66); изоцитратдегидрогеназы 3 (NAD⁺) альфа, изоформы CRA_e (SEQ ID NOs: 12, 81); малатдегидрогеназы, цитоплазматической (SEQ ID NOs: 13, 82); альфа-субкомплекса NADH-дегидрогеназы (убихинона) 1 (SEQ ID NOs: 14, 83); Fe-S-белка 1 NADH-дегидрогеназы (убихинона) (SEQ ID NOs: 15, 84, 67); Fe-S-белка 8 NADH дегидрогеназы (убихинона) (SEQ ID NOs: 16, 85); корового белка-1 убихинол-цитохром-с-редуктазного комплекса (SEQ ID NOs: 17, 86); субъединицы d комплекса F₀ митохондриальной АТФ-синтазы, H⁺-транспортной (SEQ ID NOs: 18, 87, 88); креатинкиназы из мозга (SEQ ID NOs: 19, 89); белка 8 теплового шока (SEQ ID NOs: 20, 90, 91); белка 9 теплового шока (SEQ ID NOs: 21, 92); перинуклеарной формы гомолога Hsp70 (морталина mot-2) (SEQ ID NO: 22); связанный связанный с протеиндисульфидизомеразой 3 (SEQ ID NOs: 23, 93); субъединицы A комплекса VI лизосомной АТФазы, H⁺-транспортной (SEQ ID NOs: 24, 94); субъединицы 26S протеасом, АТФазы, 4 (SEQ ID NOs: 25, 95, 96); α-субъединицы протеасом 2 типа (SEQ ID NOs: 26, 97); C-концевой гидролазы убиквитина L1, изоформы CRA_b (SEQ ID NOs: 27, 98); валозин-содержащего белка, изоформы CRA_b (SEQ ID NOs: 28, 99); 3-гидроксиизобутиратдегидрогеназы (SEQ ID NOs: 29, 100); бифенилгидролазоподобного белка (SEQ ID NOs: 30, 101); белка 2 содержащего домен подобный гидролазной галоациддегалогеназе (SEQ ID NOs: 31, 102); β-актина (а.к. 27-375) (SEQ ID NOs: 32, 103); γ-актина (SEQ ID NOs: 33, 104); профилина 2, изоформы CRA_b (SEQ ID NOs: 34, 105, 106); трансгелина 3 (SEQ ID NOs: 35, 107); аннексина A6, изоформы CRA_b (SEQ ID NOs: 36, 108, 109); интернексина, белка промежуточных филаментов нейронов, альфа (SEQ ID NOs: 37, 110); легкого полипептида нейрофиламентов (SEQ ID NOs: 38, 111); глиального фибриллярного кислого белка (SEQ ID NOs: 39, 112, 113); тубулина, альфа-1В (SEQ ID NOs: 40, 114); тубулина, бета (SEQ ID NOs: 41, 115); тубулина, бета-3 (SEQ ID NOs: 42, 116); дигидропиримидиназоподобного белка 2 (SEQ ID NOs: 43, 117); дигидропиримидиназоподобного белка 4, изоформы CRA_c (SEQ ID NOs: 44, 118); распространенного в мозге мембранного сигнального белка 1 (SEQ ID NOs: 45, 119); RAB1B, члена семейства онкогенов RAS; изоформы CRA_a (SEQ ID NOs: 46, 120); RAB3A, члена семейства онкогенов RAS (SEQ ID NOs: 47, 121); RAB6A, члена семейства онкогенов RAS (SEQ ID NOs: 48, 122); ингибитора-1 диссоциации гуанозиндифосфата (SEQ ID NOs: 49, 123); фосфолипазы C, альфа (SEQ ID NOs: 51, 125); кальцинейрина B, I типа (SEQ ID NOs: 52, 126, 127); кальбиндина 28K (SEQ ID NOs: 53, 128); кальретинина (SEQ ID NOs: 54, 129); визинин-подобного белка 1 (SEQ ID NOs: 55, 130); внутриклеточного хлорного канала 4 (митохондриального) (SEQ ID NOs: 56, 131); mCG7191 (белка-ингибитора Raf-киназы (RKIP)) (SEQ ID NOs: 57, 132); пероксиредоксина 1 (SEQ ID NOs: 60, 135); пероксиредоксина 3 (SEQ ID NOs: 61, 136); пиридоксалькиназы (киназы пиридоксина, витамина B₆) (SEQ ID NOs: 62, 137); и гуаниннуклеотид-связывающего белка, альфа₀, изоформы B (SEQ ID NOs: 63, 138, 139);

для применения в качестве средства диагностики.

19. Способ диагностики заболеваний, включающий:

(i) определение *in vitro* в выделенном экспланте ткани или в выделенной из организма жидкости субъекта количества белка, идентичного по аминокислотной последовательности по меньшей мере на 90% белку, выбранному из группы, состоящей из 14-3-3-дзета (SEQ ID NOs: 58, 133), 14-3-3-эпсилон (SEQ ID NOs: 59, 134), N-этилмалеимид-чувствительного фактора (SEQ ID NOs: 50, 124); альдолазы A, фруктозобифосфатной (SEQ ID NOs: 2, 68); альдолазы C, фруктозобифосфатной (SEQ

RU 2012157572 A

RU 2012157572 A

ID NOs: 3, 69); триозофосфатизомеразы 1 (SEQ ID NOs: 4, 65, 70); подобного глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе, изоформы 1 (SEQ ID NOs: 5, 71, 72); енолазы-1, альфа, не нейронной (SEQ ID NOs: 6, 73); енолазы-2, гамма, нейронной (SEQ ID NOs: 7, 74); лактатдегидрогеназы B (SEQ ID NOs: 8, 75); глицерофосфатдегидрогеназы 2, митохондриальной (SEQ ID NOs: 9, 76, 77); глутамат-аммиак-лигазы (глутаминсинтетазы) (SEQ ID NOs: 10, 78, 79); дигидролипоамид-S-ацетилтрансферазы (компонента E2 пируватдегидрогеназного комплекса) (SEQ ID NOs: 11, 80, 66); изоцитратдегидрогеназы 3 (NAD⁺) альфа, изоформы CRA_e (SEQ ID NOs: 12, 81); малатдегидрогеназы, цитоплазматической (SEQ ID NOs: 13, 82); альфа-субкомплекса NADH-дегидрогеназы (убихинона) 1 (SEQ ID NOs: 14, 83); Fe-S-белка 1 NADH-дегидрогеназы (убихинона) (SEQ ID NOs: 15, 84, 67); Fe-S-белка 8 NADH дегидрогеназы (убихинона) (SEQ ID NOs: 16, 85); корового белка-1 убихинол-цитохром-с-редуктазного комплекса (SEQ ID NOs: 17, 86); субъединицы d комплекса F₀ митохондриальной АТФ-синтазы, H⁺-транспортной (SEQ ID NOs: 18, 87, 88); креатинкиназы из мозга (SEQ ID NOs: 19, 89); белка 8 теплового шока (SEQ ID NOs: 20, 90, 91); белка 9 теплового шока (SEQ ID NOs: 21, 92); перинуклеарной формы гомолога Hsp70 (морталины mot-2) (SEQ ID NO: 22); связанного с протеиндисульфидизомеразой 3 (SEQ ID NOs: 23, 93); субъединицы A комплекса VI лизосомной АТФазы, H⁺-транспортной (SEQ ID NOs: 24, 94); субъединицы 26S протеасом, АТФазы, 4 (SEQ ID NOs: 25, 95, 96); α-субъединицы протеасом 2 типа (SEQ ID NOs: 26, 97); С-концевой гидролазы убиквитина L1, изоформы CRA_b (SEQ ID NOs: 27, 98); валозин-содержащего белка, изоформы CRA_b (SEQ ID NOs: 28, 99); 3-гидроксиизобутиратдегидрогеназы (SEQ ID NOs: 29, 100); бифенилгидролазоподобного белка (SEQ ID NOs: 30, 101); белка 2 содержащего домен подобный гидролазной галоациддегалогеназе (SEQ ID NOs: 31, 102); β-актина (а.к. 27-375) (SEQ ID NOs: 32, 103); γ-актина (SEQ ID NOs: 33, 104); профилина 2, изоформы CRA_b (SEQ ID NOs: 34, 105, 106); трансгелина 3 (SEQ ID NOs: 35, 107); аннексина A6, изоформы CRA_b (SEQ ID NOs: 36, 108, 109); интернексина, белка промежуточных филаментов нейронов, альфа (SEQ ID NOs: 37, 110); легкого полипептида нейрофиламентов (SEQ ID NOs: 38, 111); глиального фибриллярного кислого белка (SEQ ID NOs: 39, 112, 113); тубулина, альфа-1B (SEQ ID NOs: 40, 114); тубулина, бета (SEQ ID NOs: 41, 115); тубулина, бета-3 (SEQ ID NOs: 42, 116); дигидропиримидиназоподобного белка 2 (SEQ ID NOs: 43, 117); дигидропиримидиназоподобного белка 4, изоформы CRA_c (SEQ ID NOs: 44, 118); распространенного в мозге мембранного сигнального белка 1 (SEQ ID NOs: 45, 119); RAB1B, члена семейства онкогенов RAS; изоформы CRA_a (SEQ ID NOs: 46, 120); RAB3A, члена семейства онкогенов RAS (SEQ ID NOs: 47, 121); RAB6A, члена семейства онкогенов RAS (SEQ ID NOs: 48, 122); ингибитора-1 диссоциации гуанозиндифосфата (SEQ ID NOs: 49, 123); фосфолипазы C, альфа (SEQ ID NOs: 51, 125); кальцинейрина B, I типа (SEQ ID NOs: 52, 126, 127); кальбиндина 28K (SEQ ID NOs: 53, 128); кальретинина (SEQ ID NOs: 54, 129); визинин-подобного белка 1 (SEQ ID NOs: 55, 130); внутриклеточного хлорного канала 4 (митохондриального) (SEQ ID NOs: 56, 131); mCG7191 (белка-ингибитора Raf-киназы (RKIP)) (SEQ ID NOs: 57, 132); пероксиредоксина 1 (SEQ ID NOs: 60, 135); пероксиредоксина 3 (SEQ ID NOs: 61, 136); пиридоксалькиназы (киназы пиридоксина, витамина B₆) (SEQ ID NOs: 62, 137); и гуаниннуклеотид-связывающего белка, альфа₀, изоформы B (SEQ ID NOs: 63, 138, 139); либо полинуклеотиду, кодирующему данный белок;

(ii) необязательно определение того, отличается ли количество данного белка от количества соответствующего белка, измеренного у здорового субъекта; и

(iii) необязательно установление корреляции изменения экспрессии данного белка,

по сравнению с экспрессией данного белка у здорового субъекта, с неврологическим заболеванием, предпочтительно выбранным из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, рассеянного склероза или повреждения мозга и болезни Паркинсона.

20. Полинуклеотид, кодирующий полипептид по любому из пп.1-12.

A 2 7 5 7 5 7 2 2 0 1 2 1 5 7 1 2 1 0 2 R U

R U 2 0 1 2 1 5 7 5 7 2 A