

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202090485 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.05.27(51) Int. Cl. G01N 33/574 (2006.01)
G06F 17/30 (2006.01)
G06F 19/12 (2011.01)(22) Дата подачи заявки
2018.08.14

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПУТЕМ ИНГИБИРОВАНИЯ SETD2

(31) 62/545,353

(32) 2017.08.14

(33) US

(86) PCT/US2018/046698

(87) WO 2019/036466 2019.02.21

(71) Заявитель:
ЭПИЗАЙМ, ИНК. (US)

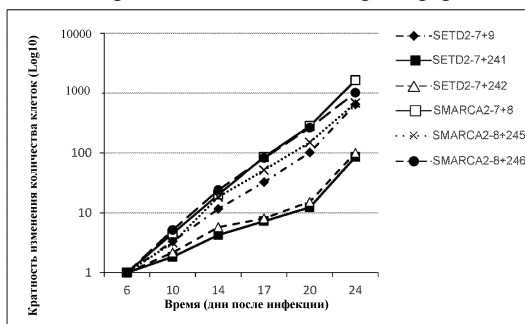
(72) Изобретатель:

Грассиан Александра Розе, Томениус
Майкл, Тотмэн Дженнифер Энн (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение предусматривает способы и фармацевтические композиции для лечения или замедления прогрессирования рака, т.е., в частности, рака поджелудочной железы или рака пищевода, с помощью введения субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества ингибитора гистоновой метилтрансферазы SETD2.



202090485

A1

A1

202090485

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-561379EA/019

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПУТЕМ ИНГИБИРОВАНИЯ SETD2

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРЕДСТАВЛЕННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

Содержание перечня последовательностей, представленного в электронном виде, в текстовом файле ASCII (название: 3562.012000_Sequence_listing_ST25.txt; размер: 1142 байта и дата создания: 14 августа, 2017 г.), поданного вместе с заявкой, включено в данный документ посредством ссылки в полном его объеме.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение в целом относится к области терапии рака на основе эпигенетики. В частности, настоящее изобретение относится к способам и фармацевтическим композициям для лечения рака путем ингибирования гистоновой метилтрансферазы человека, SETD2.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Избирательное присоединение метильных групп к специфическим участкам аминокислот на гистонах находится под контролем семейства ферментов, известных как гистоновой метилтрансферазы (HMT). Уровень экспрессии конкретного гена зависит от присутствия или отсутствия одной или нескольких метильных групп на соответствующем участке гистонов. Специфический эффект метильной группы в отношении конкретного участка гистона длится до тех пор, пока метильная группа не будет удалена гистондеметилазой, или до тех пор, пока модифицированный гистон не будет заменен посредством обновления нуклеосом. Подобным образом другие классы ферментов могут присоединять к ДНК и гистонам другие химические соединения, и при этом другие ферменты могут удалять эти соединения, чтобы обеспечить контроль экспрессии генов.

SETD2 представляет собой гистоновую метилтрансферазу, которая расположена в цитогенетическом кластере p21.31 хромосомы 3 (3p21.31). Сокращение "SETD2" означает белок 2, содержащий домен Супрессора вариации, Энхансера zeste и Триторакса. Белок SETD2 содержит три консервативных функциональных домена: (1) тройной домен AWS-SET-PostSET; (2) домен WW и (3) домен, взаимодействующий с Set2-Rbp1 ("SRI"). Эти три функциональных домена определяют биологические функции SETD2. См. Li, J. et al., *Oncotarget* 7:50719-50734 (2016). Полагают, что SETD2 является единственным геном человека, который отвечает за триметилирование лизина-36 (Lys-36) гистона H3 (H3K36me3) с использованием диметилированного Lys-36 (H3K36me2) в качестве субстрата. Edmunds, J.W. et al., *The EMBO Journal* 27:406-420 (2008).

В частности, было показано, что SETD2 человека обладает функциональными возможностями супрессора опухолей. Li, J. et al., *Oncotarget* 7:50719-50734 (2016). Например, сообщалось об инактивации SETD2 человека при карциноме почки (RCC). Larkin, J., et al., *Nature Reviews* 9:147-155 (2012). Также сообщалось, что уровни экспрессии SETD2 в образцах рака молочной железы были значительно ниже по

сравнению с образцами из соседней незлокачественной ткани (ANCT). Newbold, R.F. and Mokbel, K., *Anticancer Research* 30: 3309-3311 (2010). Кроме того, сообщалось, что у пациентов с острым лейкозом были обнаружены биаллельные мутации и точечные мутации с утратой функции в SETD2. Zhu, X. et al., *Nature Genetics* 46: 287-293 (2014). Мутации в SETD2 были также зарегистрированы при педиатрических глиомах высокой степени злокачественности. Fontebasso, A.M. et al., *Acta Neuropathol.* 125: 659-669 (2013).

Несмотря на более чем столетнюю историю научных и клинических исследований, на сегодняшний день лечение рака остается одной из самых серьезных медицинских проблем. Лечение рака главным образом основано на сочетании хирургии, лучевой терапии и/или методов цитотоксической химиотерапии. И хотя существуют эффективные методы терапии рака, остаются проблемы субоптимального ответа, рецидивирующих и рефрактерных форм заболевания, и/или резистентности к одному или нескольким терапевтическим средствам. Соответственно, существует медицинская необходимость в более эффективных, надежных и длительных методах терапии для лечения всех типов рака.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение относится к неожиданному открытию, согласно которому ингибирование SETD2 человека, несмотря на его известные функциональные возможности в качестве супрессора опухолей, может использоваться для лечения рака, и в частности рака поджелудочной железы и рака пищевода.

В одном аспекте настоящее изобретение направлено на способ лечения рака, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества ингибитора SETD2.

В одном аспекте настоящее изобретение направлено на способ уменьшения или ингибирования пролиферации раковой клетки, предусматривающий (i) приведение в контакт раковой клетки с эффективным количеством ингибитора SETD2 и (ii) уменьшение или ингибирование пролиферации указанной раковой клетки.

В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 выбран из группы, состоящей из полипептида, ДНК и РНК.

В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 представляет собой (i) выделенную связывающую молекулу, которая специфически связывается с полипептидом SETD2; (ii) выделенную связывающую молекулу, которая специфически связывается с лигандом полипептида SETD2; или (iii) антисыворотку против полипептида SETD2.

В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, который специфически связывается с полипептидом SETD2. В определенных вариантах осуществления антитело представляет собой поликлональное, моноклональное, мышинное, человеческое, гуманизированное или химерное антитело. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab-, Fab'-, F(ab')₂-, Fv-, scFv-, sdFv-

фрагмент, VH-домен, или VL-домен.

В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 представляет собой RNAi, miRNA, siRNA, shRNA, антисмысловую РНК, антисмысловую ДНК, молекулу-ловушку, ДНК-ловушку, двухнитевую ДНК, одонитевую ДНК, комплексную ДНК, инкапсулированную ДНК, вирусную ДНК, плазмидную ДНК, "голую" РНК, инкапсулированную РНК, вирусную РНК, двухнитевую РНК, молекулу, способную обеспечивать РНК-интерференцию, или их комбинации, которые гибридизируются с нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид SETD2, в жестких условиях, или систему редактирования генов. В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 представляет собой siRNA, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-4. В определенных вариантах осуществления система редактирования генов представляет собой CRISPR/Cas9.

В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 представляет собой низкомолекулярное соединение. В определенных вариантах осуществления низкомолекулярное соединение представляет собой производное синефунгина, выбранное из группы, состоящей из N-пропилсинефунгина и N-бензилсинефунгина.

В определенных вариантах осуществления рак или раковая клетка выбраны из группы, состоящей из рака надпочечника, карциномы ацинарных клеток, акустической невromы, акральной лентигинозной меланомы, акроспиромы, аденокарциномы, аденокистозной карциномы, аденомы, аденоматоидной одонтогенной опухоли, аденосквамозной карциномы, неоплазмы жировой ткани, аденокортикальной карциномы, СПИД-ассоциированной лимфомы, альвеолярной рабдомиосаркомы, альвеолярной саркомы мягких тканей, амелобластной фибромы, анапластической крупноклеточной лимфомы, анапластического рака щитовидной железы, ангиомиолипомы, ангиосаркомы, астроцитомы, атипичной тератоидной рабдоидной опухоли, базальноклеточной карциномы, рака желчных путей, рака мочевого пузыря, бластомы, рака кости, рака молочной железы, рака головного мозга, карциномы, карциномы *in situ*, карциносаркомы, опухоли хряща, цементомы, миелоидной саркомы, хондромы, хордомы, хориокарциномы, папилломы хориоидного сплетения, светлоклеточной саркомы почки, краниофарингиомы, кожной Т-клеточной лимфомы, рака шейки матки, колоректального рака, болезни Дегоса, десмопластической мелкокруглоклеточной опухоли, дизембриопластической нейроэпителиальной опухоли, дисгерминомы, эмбриональной карциномы, неоплазмы эндокринной железы, опухоли эндодермального синуса, рака пищевода, фибросаркомы, фолликулярной лимфомы, фолликулярного рака щитовидной железы, нейроганглиомы, рака желудочно-кишечного тракта, эмбрионально-клеточной опухоли, хориокарциномы матки, гигантоклеточной фибробластомы, гигантоклеточной опухоли кости, глиальной опухоли, глиобластомы, глиомы, глиоматоза головного мозга, глюкома, гонадобластомы, гранулезноклеточной опухоли, гинандробластомы, рака желчного пузыря, рака желудка, гемангиобластомы, рака головы и шеи, гемангиоперицитомы, гепатобластомы, гепатоклеточной карциномы, Т-клеточной лимфомы печени и селезенки,

инвазивной лобулярной карциномы, рака кишечника, рака почки, рака гортани, злокачественной опухоли лентиги, смертельной срединной карциномы, лейкоза, опухоли из клеток Лейдига, липосаркомы, рака легкого, лимфангиомы, лимфангиосаркомы, лимфоэпителиомы, рака печени, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, злокачественной фиброзной гистиоцитомы, злокачественной опухоли оболочек периферических нервов, злокачественной тритон-опухоли, медиастинальной опухоли зародышевых клеток, медуллярной карциномы молочной железы, медуллярного рака щитовидной железы, медуллобластомы, меланомы, менингиомы, рака кожи из клеток Меркеля, мезотелиомы, метастатической уротелиальной карциномы, смешанной опухоли Мюллера, опухоли слизистой оболочки, неоплазмы мышечной ткани, грибовидного микоза, миксоидной липосаркомы, миксомы, миксосаркомы, назофарингеальной карциномы, невриномы, нейробластомы, нейрофибромы, невромы, узловой меланомы, рака глаза, олигоастроцитомы, олигодендроглиомы, онкоцитомы, менингиомы оболочки зрительного нерва, опухоли зрительного нерва, рака ротовой полости, остеосаркомы, рака яичника, папиллярного рака щитовидной железы, параганглиомы, пинеалобластомы, пинеоцитомы, питуцитомы, аденомы гипофиза, опухоли гипофиза, плазмоцитомы, полиэмбриомы, первичной лимфомы центральной нервной системы, первичной выпотной лимфомы, первичного рака брюшины, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, фарингеального рака, псевдомиксомы брюшины, почечно-клеточной карциномы, почечно-медуллярной карциномы, ретинобластомы, рабдомиомы, рабдомиосаркомы, рака прямой кишки, саркомы, шванноматоза, семиномы, опухоли из клеток Сертоли, опухоли стромы полового тяжа яичника, рака кожи, мелкоклеточной карциномы, саркомы мягких тканей, соматостатиномы, опухоли спинного мозга, плоскоклеточной карциномы, синовиальной саркомы, рака тонкой кишки, сквамозной карциномы, рака желудка, рака яичка, рака щитовидной железы, переходно-клеточной карциномы, рака горла, рака мочевого протока, уrogenитального рака, уротелиальной карциномы, увеальной меланомы, рака матки, веррукозной карциномы, глиомы зрительного пути, рака вульвы, рака влагалища, опухоли Уортина, опухоли Вильмса, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, аденокарциномы, плоскоклеточной карциномы пищевода, аденокарциномы желудка, аденокарциномы толстой кишки, гепатоклеточной карциномы, холангиокарциномы желчевыводящей системы, аденокарциномы желчного пузыря, аденокарциномы поджелудочной железы, протоковой карциномы *in situ* молочной железы, аденокарциномы молочной железы, аденокарциномы легких, плоскоклеточной карциномы легких, переходно-клеточной карциномы мочевого пузыря, плоскоклеточной карциномы мочевого пузыря, плоскоклеточной карциномы шейки матки, аденокарциномы шейки матки, карциномы эндометрия, плоскоклеточной карциномы полового члена и плоскоклеточной карциномы кожи.

В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы, или раковая клетка происходит из рака поджелудочной железы, или рак представляет собой рак пищевода, или раковая клетка происходит из рака

пищевода.

В определенных вариантах осуществления рак или раковая клетка выбраны из группы, состоящей из рака пищевода, рака почки, рака желудка, гепатоклеточной карциномы, глиобластомы, рака центральной нервной системы (CNS), рака мягких тканей, рака легкого, рака молочной железы, рака мочевого пузыря/мочевыводящих путей, рака головы и шеи, рака предстательной железы, гематологического рака, рака поджелудочной железы, рака кожи, рака эндометрия, рака яичника и колоректального рака.

В определенных вариантах осуществления рак или раковая клетка представляет собой гематологический рак, или раковая клетка происходит из гематологического рака.

В определенных вариантах осуществления гематологический рак выбран из группы, состоящей из острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), острого миелоидного лейкоза (AML), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы (SLL), множественной миеломы (MM), лимфомы Ходжкина (HL), неходжкинской лимфомы (NHL), лимфомы из клеток мантийной зоны (MCL), В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы маргинальной зоны селезенки, фолликулярной лимфомы (FL), макроглобулинемии Вальденстрема (WM), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы маргинальной зоны (MZL), волосатоклеточного лейкоза (HCL), лимфомы Беркитта (BL), трансформации Рихтера, острого эозинофильного лейкоза, острого эритроидного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого мегакариобластного лейкоза, острого моноцитарного лейкоза, острого промиелоцитарного лейкоза, острого миелогенного лейкоза, В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, В-клеточной лимфомы, MALT-лимфомы, лимфобластной лимфомы из Т-клеток-предшественников, Т-клеточной лимфомы, тучноклеточного лейкоза, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, агрессивного NK-клеточного лейкоза и ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы.

В определенных вариантах осуществления субъектом является млекопитающее. В определенных вариантах осуществления субъектом является человек.

В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 составлен для системного или локального введения. В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 составлен для перорального, назального, внутрибрюшинного или внутриопухолевого введения. В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 составлен для внутривенного введения, внутримышечного введения или подкожного введения.

В определенных вариантах осуществления способ дополнительно предусматривает стадию введения одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 ингибирует триметилирование лизина-36 на гистоне H3 (H3K36me3).

В одном аспекте настоящее изобретение направлено на ингибитор SETD2 для применения в способе лечения рака.

В одном аспекте настоящее изобретение направлено на способ лечения рака, предусматривающий ингибирование активности SETD2 у субъекта, нуждающегося в этом.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **фигурах 1A-1B** представлены гистограммы, показывающие результаты скрининга библиотеки CRISPR, нацеленного на различные гены, в том числе SETD2. Клеточные линии, перечисленные в **таблице 1** для **фиг. 1A** и отраженные на оси X **фиг. 1B**, инфицировали объединенной библиотекой лентивирусов, где каждая лентивирусная плазида содержала полинуклеотид, кодирующий полипептид, ассоциированный с CRISPR Cas9, и полинуклеотид, кодирующий одиночную направляющую РНК (sgRNA). Каждый столбец на графиках представляет клеточную линию рака человека (за исключением одной контрольной клеточной линии MCF10A на **фиг. 1A**), и показатель LogP на оси Y представляет истощение конкретного целевого гена из выбранной популяции. Таким образом, показатель LogP относится к зависимости каждой клеточной линии от конкретного гена. В данном случае каждая клеточная линия с показателем LogP ниже 2,5 зависит от SETD2 в отношении выживания. Данные для всех 250 протестированных клеточных линий представлены в **таблице 1** и нанесены на график на **фиг. 1A**. Чувствительность к истощению SETD2 наблюдалась у клеточных линий, происходящих из рака молочной железы, пищевода, почки, легкого, желудка, мочевого пузыря/мочевыводящих путей, эндометрия, кожи, гематопоетической системы (т. е. DLBCL и AML), мягкой ткани, CNS, поджелудочной железы и яичника. На **фиг. 1B** показаны клеточные линии, происходящие из аденокарциномы протоков поджелудочной железы (PDAC), что указывает на то, что PDAC проявляет значительную чувствительность к истощению SETD2.

На **фигурах 2A-2D** приведен пример объединенной скрининговой валидации CRISPR, и на основе анализа с использованием двух sgRNA показано, что клеточная линия, происходящая из PDAC, SU8686, зависит от SETD2 человека. Ген SMARCA2 также являлся мишенью в качестве отрицательного контроля. На **фиг. 2A** схематически представлен белок SETD2 человека (содержащий 2564 аминокислоты) с указанием функциональных доменов (AWS, SET, PS, LCR, WW, SRI). Относительные положения целевых сайтов внутри гена SETD2 представлены sgRNA, нацеленными на эти сайты (sg_7, sg_9, sg_241, и sg_242). Мишенями были три сайта гена SETD2, в том числе активный сайт внутри домена SET, на который целенаправленно воздействовали с помощью sg_241 и/или sg_242. На **фиг. 2B** представлен график, показывающий эффект действия двух sgRNA, направленных либо на SETD2, либо на SMARCA2 в клеточной линии SU8686. На оси Y представлено кратное изменение количества клеток (шкала log10), а на оси X представлены дни после инфицирования. Было обнаружено, что комбинации sgRNA, в которых по меньшей мере одна из двух sgRNA нацелена на активный сайт SETD2 (т. е. sg_241 или sg_242), характеризовались сильно выраженным эффектом в отношении пролиферации этой клеточной линии. Напротив, sgRNA,

нацеленные только на области вне активного сайта SETD2 (sg_7 и sg_9), не влияли на клеточную пролиферацию. Точно так же sgRNA, которые инактивировали отрицательный контроль SMARCA2, не оказывали эффекта в отношении пролиферации. На **фиг. 2С** представлена гистограмма, показывающая генотипы клеток, которые спустя некоторое время выжили после заражения sgRNA, нацеленными на SETD2 (sg_7 и sg_241). Применяли секвенирование нового поколения (NGS) сайтов, вырезанных с помощью sgRNA, для генотипирования выживших клеток как дикого типа, так и содержащих вставку или делецию внутри или вне рамки считывания ("вставка/делеция"). Эта гистограмма показывает, что среди клеток, инфицированных sgRNA для SETD2, через некоторое время популяция аллелей дикого типа (неразрезанных) увеличивалась, что указывает на то, что клетки с функционально активным SETD2 имеют преимущество в выживании по сравнению с клетками с нефункциональным вариантом SETD2. На **фиг. 2D** представлена гистограмма, на которой представлены генотипы клеток, которые выжили спустя некоторое время после инфицирования sgRNA для SMARCA2 (отрицательный контроль). Эта гистограмма показывает, что генотип, ассоциированный с sgRNA для SMARCA2, остается неизменным с течением времени, что указывает на то, что активность SMARCA2 не является необходимым условием жизнеспособности и роста клеточной линии SU8686.

На **фиг. 3А-3В** продемонстрировано, что скрининг с помощью CRISPR пула доменов клеточной линии OE21 рака пищевода определяет домен SET в качестве важного для чувствительности SETD2. На **фиг. 3А** схематически представлен белок SETD2 человека (содержащий 2564 аминокислоты) с указанием функциональных доменов (AWS, SET, PS, LCR, WW, SRI). На **фиг. 3В** представлена гистограмма, на которой показан процент истощения в результате скрининга с использованием sgRNA, нацеленных на всю длину гена SETD2. Данные указывают на то, что домен SET и другие домены, которые являются важными для функции кодируемого белка (включая "ассоциированный с SET" домен (AWS)), подвергаются истощению в большей степени, чем другие области белка. Это обусловлено тем, что функциональные домены имеют гораздо более низкую переносимость мутаций по сравнению с другими областями. Эти данные полностью поддерживают гипотезу о том, что нацеливание на домен SET/активный сайт SETD2 с помощью низкомолекулярного ингибитора будет приводить к фенотипу роста (т. е. сниженной пролиферации) в этой клеточной линии рака пищевода.

На **фигуре 4** представлена таблица, обобщающая усилия по валидации мишеней скрининговых анализов с помощью CRISPR. Иллюстративные клеточные линии указаны в первой колонке. Результаты указывают, является ли клеточная линия чувствительной или нечувствительной к мутации истощения SETD2. Результаты объединенного скрининга с помощью CRISPR для выбранных клеточных линий показаны в колонке "Eripool". Результаты объединенного скрининга с помощью CRISPR конкретных доменов показаны в колонке "Пул Epidomain". Такие результаты указывают на то, что для эффекта

необходим домен SET для SETD2. Валидация результатов объединенного скрининга с помощью CRISPR в клеточных линиях с использованием анализа CRISPR с использованием двух sgRNA, нацеленных на SETD2 и NGS (как показано на **фиг. 2**), показана в колонках "Пролиферация" и "NGS". Ячейки, помеченные как , обозначают чувствительные; ячейки, помеченные серым, обозначают нечувствительные; ячейки, помеченные как , указывают на неубедительные результаты; ячейки белого цвета указывают на то, что данные не доступны.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Определения

Чтобы облегчить понимание настоящего изобретения, ряд терминов и фраз определен ниже.

Неограничивающие термины, такие как "включать", "в том числе", "содержать", "содержащий" и т. п. означают "включающий в себя". Такие переходные фразы с открытым концом используют для представления неисчерпывающего перечня элементов, стадий способа или т. п., что не исключает дополнительных, неучтенных элементов или стадий способа. Почти все аспекты описаны в данном документе с использованием слова "содержащий", в других случаях также предоставляются аналогичные аспекты, описанные с использованием терминов "состоящий из" и/или "фактически состоящий из".

Используемые в настоящем изобретении и формуле изобретения формы единственного числа включают формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное. Например, термин "клетка" включает одиночную клетку, а также множество клеток, в том числе их смеси.

Термин "SETD2" (также известный как белок-2, содержащий домен SET; белок B, взаимодействующий с хантингином, лизин N-метилтрансфераза 3A; белок B дрожжей, связывающий хантингтин; EC 2.1.1.43; P231HBP; HIP-1; HIF-1; KMT3A; HYPB; SET2; гистон-лизин N-метилтрансфераза SETD2; белок 1, взаимодействующий с хантингином; белок 1, взаимодействующий с хантингином; белок 2, содержащий домен SET; KIAA1732; HSPC069; HBP231; HSET2; HIF1 и LLS) относится к нативной гистоновой метилтрансферазе SETD2, если не указано иное. "SETD2 человека" относится к нативной гистоновой метилтрансферазе SETD2 человека. "SETD2" охватывает полноразмерный необработанный SETD2, а также любую форму SETD2, которая возникает в результате процессинга внутри клетки. Термин также охватывает встречающиеся в природе варианты SETD2, например, варианты сплайсинга, аллельные варианты и изоформы. SETD2 может быть выделен из различных источников, например, из разных типов ткани человека или типов ткани других животных организмов, или может быть получен рекомбинантными или синтетическими способами. Примеры последовательностей гена человека, кодирующего SETD2, или последовательностей полипептида SETD2 включают без ограничения ген NCBI ID 29072, HGNC: 18420 и вариант 1 транскрипта SETD2,

эталонную последовательность mRNA в NCBI: NM_014159.6. Ген, кодирующий SETD2, расположен на коротком плече хромосомы 3. Хотя термин "SETD2", используемый в данном документе, обычно относится к гену, кодирующему SETD2 человека, также предусматриваются формы гена SETD2 других млекопитающих.

Используемый в данном документе термин "функциональный домен SETD2" относится к одному из трех консервативных функциональных доменов SETD2, которые, как считается, определяют биологическую функцию SETD2. Такими функциональными доменами являются (1) тройной домен AWS-SET-PostSET; (2) домен WW и (3) домен, взаимодействующий с Set2-Rbp1 ("SRI") (Li, J. et al., Oncotarget 7:50719-50734 (2016)), который может быть описан следующим образом.

Домен AWS-SET-PostSET. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что домен SET человека представляет собой мотив из 130 аминокислот, который является эволюционно консервативным от дрожжей до млекопитающих и также обнаружен у некоторых бактерий и вирусов. Домен SET обычно присутствует как часть мультидомена, фланкированного доменами AWS (ассоциированный с SET) и PostSET. Обычно белки, содержащие домен SET, переносят одну или несколько метильных групп от S-аденозил-L-метионина на аминокислотный остаток лизина или аргинина гистонов или других белков. Полагают, что этот перенос зависит от фланкирующих областей AWS и PostSET, которые содержат несколько консервативных остатков цистеина. В отличие от других метилтрансфераз, метилтрансферазы, содержащие домен SET, имеют α -складчатую структуру, которая облегчает множественные циклы метилирования без диссоциации субстрата.

Домен WW. "Домен WW" относится к наличию двух консервативных остатков триптофана (W), разделенных 20-22 аминокислотами. Анализы связывания показывают, что домен WW преимущественно связывается с сегментами, обогащенными пролином, опосредуя белок-белковые взаимодействия для участия в различных молекулярных процессах. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что домен WW распознает мотивы, такие как пролин-пролин-х-тирозин (PPxY), фосфо-серин-пролин (p-SP) или фосфо-треонин-пролин (p-ST), и опосредует связывание белка. Аномальная экспрессия генов, содержащих домен WW, была связана с такими заболеваниями, как HD, болезнь Альцгеймера и множественные подтипы рака. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что домен WW в C-концевой области SETD2 взаимодействует с белком хантингтином через его сегменты, обогащенные пролином, независимо от длины ассоциированной с HD полиглутаминовой последовательности, а также может взаимодействовать с TP53. SETD2 содержит обогащенный пролином участок, который находится перед доменом WW. Этот обогащенный пролином участок функционирует как внутримолекулярный домен, взаимодействующий с WW, который может блокировать взаимодействие домена WW в SETD2 с обогащенным пролином участком хантингтина и, скорее всего, также других белков.

Домен SRI. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что домен,

взаимодействующий с Set2 Rpb1 ("SRI"), взаимодействует с гиперфосфорилированным С-концевым доменом (CTD) Rpb1, самой большой субъединицей RNA Pol II. Также не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что у людей первичный сайт RNA Pol II, стыкующийся с С-концевым доменом, расположен на первой и второй спиралях SETD2. Считается, что этот домен направляет активность SETD2 по направлению к активно транскрибируемым генам.

Используемая в данном документе фраза "по сути подобный" или "по сути такой же" обозначает достаточно высокую степень сходства между двумя числовыми значениями, такую, чтобы специалист в данной области посчитал бы, что различие между этими двумя значениями должно быть невелико или не иметь биологической и/или статистической значимости в контексте биологических характеристик, измеренных посредством указанных значений (например, значений K_d).

Полипептид, антитело, полинуклеотид, вектор, клетка или композиция, которые "выделены", представляют собой полипептид, антитело, полинуклеотид, вектор, клетку или композицию, которые находятся в форме, не встречающейся в природе. Выделенные полипептиды, антитела, полинуклеотиды, векторы, клетки или композиции включают таковые, которые были очищены до степени, в которой они больше не встречаются в природе. В некоторых вариантах осуществления антитело, полинуклеотид, вектор, клетка или композиция, которые выделены, являются по сути чистыми.

Используемый в данном документе термин "по сути чистый" относится к материалу, который является на по меньшей мере 50% чистым (т. е. не содержит загрязнителей), на по меньшей мере 90% чистым, на по меньшей мере 95% чистым, на по меньшей мере 98% или на по меньшей мере 99% чистым.

Термины "полинуклеотид" или "нуклеиновая кислота", используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к полимерам любой длины, состоящим из нуклеотидов, и включают как ДНК, так и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания и/или их аналоги, или любой субстрат, который может быть включен в полимер с помощью ДНК- или РНК-полимеразы. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и их аналоги. В случае присутствия модификация нуклеотидной структуры может быть передана до или после сборки полимера. Последовательность нуклеотидов может быть прервана ненуклеотидными компонентами.

Термины "полипептид", "пептид" и "белок" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к полимерам любой длины, состоящим из аминокислот. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты и он может прерываться не аминокислотами. Термины также охватывают аминокислотный полимер, который был модифицирован естественно или с вмешательством; например, путем образования дисульфидной связи, гликозилирования, липидизации, ацетилирования, фосфорилирования или любых других

манипуляций или модификаций, таких как конъюгация с метящим компонентом. В определение также включены, например, полипептиды, содержащие один или несколько аналогов аминокислот (включающие, например, не встречающиеся в природе аминокислоты и т. д.), а также другие модификации, известные из уровня техники. Известно, что поскольку полипептиды по настоящему изобретению основаны на антителах, - в определенных вариантах осуществления полипептиды могут встречаться в виде отдельных цепей или ассоциированных цепей.

Термины "идентичный" или процент "идентичности" в контексте двух или более нуклеиновых кислот или полипептидов относятся к двум или более последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент нуклеотидов или аминокислотных остатков, которые являются одинаковыми при их сравнении и выравнивании (с введением символов, если это необходимо) для максимального соответствия, не рассматривая при этом какие-либо консервативные аминокислотные замещения как часть идентичности последовательности. Процент идентичности может быть измерен с использованием программного обеспечения или алгоритмов для сравнения последовательностей или путем визуальной проверки.

Из уровня техники известны разные алгоритмы и программное обеспечение, которые могут использоваться для выравнивания аминокислот или нуклеотидных последовательностей. Одним таким неограничивающим примером алгоритма выравнивания последовательностей является алгоритм, описанный в Karlin et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 87:2264-2268 (1990), как модифицированный в Karlin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 90:5873-5877 (1993) и включенный в программы NBLAST и XBLAST (Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1991)). В определенных вариантах осуществления может использоваться Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997). BLAST-2, WU-BLAST-2 (Altschul et al., Methods in Enzymology 266:460-480 (1996)), ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, Южный Сан-Франциско, Калифорния, США) или Megalign (DNASTAR), которые представляют собой дополнительные общедоступные компьютерные программы, которые можно использовать для выравнивания последовательностей. В определенных вариантах осуществления процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями определен с использованием программы GAP в программном обеспечении GCG (например, с использованием матрицы NWSgapdna.CMP и штрафа за открытие гэпа, составляющего 40, 50, 60, 70 или 90, и штрафа за продолжение гэпа, составляющего 1, 2, 3, 4, 5 или 6). В определенных альтернативных вариантах осуществления программа GAP в пакете программного обеспечения GCG, которая внедряет алгоритм Нидлмана-Вунша (J. Mol. Biol. 48:444-453 (1970)), может использоваться для определения процента идентичности между двумя аминокислотными последовательностями (например, с использованием либо матрицы Blossum 62, либо матрицы PAM250, и штрафа за открытие гэпа, составляющего 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4, и штрафа за продолжение гэпа, составляющего 1, 2, 3, 4, 5). В качестве альтернативы в определенных вариантах осуществления процент идентичности

между нуклеотидными или аминокислотными последовательностями определяют с использованием алгоритма Майерса и Миллера (CABIOS, 4:11-17 (1989)). Например, процент идентичности может быть определен с использованием программы ALIGN (версия 2.0) и с использованием PAM120 с таблицей оснований, и штрафа за продолжение гэпа, составляющего 12, и штрафа за пропуск в последовательности, составляющего 4. Подходящие параметры максимального выравнивания путем использования специального программного обеспечения для выравнивания могут быть определены специалистом в данной области. В определенных вариантах осуществления используются параметры по умолчанию программного обеспечения для выравнивания. В определенных вариантах осуществления процент идентичности "X" первой аминокислотной последовательности относительно второй аминокислотной последовательности рассчитывается как $100 \times (Y/Z)$, где Y - число аминокислотных остатков, оцененных как идентичные совпадения при выравнивании первой и второй последовательностей (в соответствии с визуальным осмотром или конкретной программой для выравнивания последовательностей), и Z - общее число остатков во второй последовательности. Если длина первой последовательности превышает длину второй последовательности, то процент идентичности первой последовательности относительно второй последовательности будет выше, чем процент идентичности второй последовательности относительно первой последовательности.

В качестве неограничивающего примера то, характеризуется ли какой-либо конкретный полинуклеотид определенной процентной идентичностью последовательности (например, является на по меньшей мере 80% идентичным, на по меньшей мере 85% идентичным, на по меньшей мере 90% идентичным и в определенных вариантах осуществления на по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичным) относительно эталонной последовательности в определенных вариантах осуществления может быть определено с использованием программы Bestfit (Висконсинский пакет для анализа последовательностей, версия 8 для Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Мэдисон, Висконсин 53711, США). В Bestfit используется алгоритм локальной гомологии, изложенный в Smith и Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2: 482-489 (1981), для нахождения наилучшего сегмента гомологии между двумя последовательностями. В случае использования Bestfit или любой другой программы для выравнивания последовательностей для определения того, является ли конкретная последовательность, например, на 95% идентичной последовательности сравнения в соответствии с настоящим изобретением, параметры настроены таким образом, чтобы процент идентичности рассчитывался по всей длине эталонной нуклеотидной последовательности и чтобы допускались гэпы в гомологии не более 5% от общего числа нуклеотидов в эталонной последовательности.

В некоторых вариантах осуществления две нуклеиновые кислоты или два полипептида, описанные в данном документе, являются по сути идентичными, что означает то, что они характеризуются по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по

меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичностью нуклеотидных или аминокислотных остатков при сравнении и выравнивании для максимального соответствия, измеренного с использованием алгоритма сравнения последовательностей или визуального осмотра. В определенных вариантах осуществления существует идентичность в области последовательностей, длина которой составляет по меньшей мере приблизительно 10, приблизительно 20, приблизительно 40-60 остатков или любое целое значение между ними, или более длинной области чем 60-80 остатков, составляющей по меньшей мере приблизительно 90-100 остатков, или последовательности по сути идентичны по всей длине сравниваемых последовательностей, такой как, например, кодирующая область нуклеотидной последовательности.

Используемый в данном документе термин "субъект" относится к любому животному организму (например, млекопитающему), в том числе без ограничения людям, нечеловекообразным приматам, грызунам и т. п., которые должны быть реципиентами конкретного лечения. Как правило, ссылаясь на субъекта-человека, термины "субъект" и "пациент" используются в данном документе взаимозаменяемо.

Термин "опухоль" и "неоплазма" относится к любой массе ткани, которая возникает в результате избыточного роста или пролиферации клеток, либо доброкачественной (нераковой) либо злокачественной (раковой), включая предраковые очаги поражений *in situ*.

Термины "рак", "раковый" или "злокачественный" используются взаимозаменяемо и относятся к физиологическому состоянию у млекопитающих (т. е. людей), при которых популяция клеток характеризуется неконтролируемым или нерегулируемым ростом или пролиферацией клеток. Примеры рака включают, например, карциному, лимфому, бластому, саркому, миелому и лейкоз. Неограничивающие примеры типов рака, которые могут подвергаться лечению с применением способов и фармацевтических композиций по настоящему изобретению, включают рак пищевода, рак почки, рак желудка, гепатоклеточную карциному, глиобластому, рак центральной нервной системы (CNS), рак мягких тканей, рак легкого, рак молочной железы, рак мочевого пузыря/мочевыводящих путей, рак головы и шеи, рак предстательной железы, гематологический рак, рак поджелудочной железы, колоректальный рак, рак кожи, рак эндометрия, рак яичника и колоректальный рак.

Термин "рецидивирующий" рак у пациента относится к пациентам, которые ранее достигали полной или частичной ремиссии, однако через период времени 6 или более месяцев демонстрируют признаки прогрессирования заболевания.

Термин "рефрактерный" рак у пациента относится к пациентам, которые подверглись неэффективному лечению или прогрессированию заболевания в течение 6 месяцев после последней противоопухолевой терапии.

Опухоль, которая "не отвечает" или "плохо отвечает" на лечение (например, с

использованием конкретной химиотерапевтической схемы), не демонстрирует статистически значимого улучшения в ответ на указанное лечение по сравнению с отсутствием лечения или действием плацебо в признанной животной модели или в клинических испытаниях с участием людей, однако растет по мере продолжения лечения.

Термин "фармацевтический состав" относится к лекарственному препарату в форме, способствующей тому, чтобы биологическая активность активного ингредиента(-ов) была эффективной, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются недопустимо токсичными для субъекта, которому вводили бы этот лекарственный состав. Такой состав может быть стерильным.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству терапевтического средства (например, низкомолекулярному ингибитору SETD2), которое является эффективным для "лечения" заболевания или нарушений у субъекта или млекопитающего. В случае рака терапевтически эффективное количество средства может уменьшать количество раковых клеток, снижать пролиферацию раковых клеток, уменьшать размер опухоли, ингибировать (т. е. замедлять до некоторой степени, а в некоторых вариантах осуществления останавливать) инфильтрацию раковых клеток в периферические органы, ингибировать (т. е. замедлять до некоторой степени, а в некоторых вариантах осуществления останавливать) метастазирование опухоли, ингибировать до некоторой степени рост опухоли и/или ослаблять до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с раком. См. определение термина "лечение" в данном документе. В той степени, в которой средство может предупреждать рост существующих раковых клеток и/или уничтожать их, оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим.

Термин "профилактически эффективное количество" относится к эффективному количеству в дозировках и периодах времени, необходимых для достижения требуемого профилактического результата. Как правило, но не обязательно, поскольку профилактическую дозу субъекты принимают до или на более ранних стадиях заболевания, то профилактически эффективное количество препарата может быть меньшим, чем терапевтически эффективное количество.

Термины, такие как "осуществление лечения", "лечение", "лечить", "оказывать терапевтический эффект",

"облегчение", "облегчать" или "замедление прогрессирования" относятся как к 1) терапевтическим мерам, которые излечивают, устраняют, замедляют, уменьшают симптомы и/или останавливают прогрессирование диагностированного патологического расстройства, такого как рак; так и к 2) профилактическим или предупредительным мерам, которые предупреждают и/или замедляют развитие рака. Таким образом, к числу тех, кто нуждается в лечении, относятся те, у кого уже есть заболевание; те, кто склонны к заболеванию и те, у кого заболевание должно быть предупреждено. В определенных вариантах осуществления субъект подвергается успешному "лечению" от рака в соответствии со способами по настоящему изобретению, если у пациента наблюдается

один или несколько параметров из следующих: уменьшение кахексии, увеличение времени выживания, удлинение периода времени до прогрессирования опухоли, уменьшение объема опухоли, уменьшение массы опухоли и/или продление периода времени до метастазирования опухоли, продление периода времени до рецидива опухоли или прогрессирования заболевания, ответ опухоли, полный ответ (CR), частичный ответ (PR), стабилизация заболевания, выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS), общая выживаемость (OS), причем каждый из этих показателей измеряется стандартами, установленными Национальным институтом рака и Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) для утверждения новых лекарственных средств. См., Johnson et al, J. Clin. Oncol. 21:1404-1411 (2003). В некоторых вариантах осуществления "терапевтический эффект," как определено выше, также охватывает уменьшение токсичности или побочных эффектов и/или улучшение переносимости.

"Введение" относится к физическому введению ингибитора SETD2, как описано в данном документе (и/или одного или нескольких дополнительных терапевтических средств), субъекту с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Пути введения включают пероральный, мукозальный, местный, внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, с помощью инъекции или инфузии. Используемый в данном документе термин "парентеральное введение" означает пути введения, включающие без ограничения внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрилимфатическую, внутриочаговую, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интратермальную инъекцию и инфузию, а также *in vivo* электропорацию. Введение может быть выполнено, например, один раз, множество раз и/или в течение одного или нескольких продолжительных периодов времени.

Термин "комбинация средств", такая как комбинация ингибитора SETD2 и одного или нескольких других терапевтических средств, относится к введению этих средств одному и тому же субъекту одновременно, последовательно или как одновременно, так и последовательно. В качестве примера введение ингибитора SETD2 до или после (например, по часу(-ам), дню(-ям), неделе(-ям) или месяцу(-ам)) введения другого терапевтического средства включает введение комбинации средств независимо от того, вводятся ли средства вместе в одном фармацевтическом составе или в отдельном фармацевтическом составе с помощью одного и того же или разных путей введения.

Используемый в данном документе термин "снижение или ингибирование пролиферации раковой клетки" относится к наблюдаемому *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo* снижению роста одной или нескольких клеток, происходящих из рака млекопитающего (например, человека), как описано в данном документе.

Все числа в настоящем изобретении, указывающие на количества, соотношения, физические свойства материалов и/или применение, следует понимать как измененные словом "приблизительно", если не указано иное. Термин "приблизительно" при ссылке на число или числовой диапазон означает, что указанное число или диапазон относится к приближительному, например, в пределах экспериментальной изменчивости (или в пределах статистической экспериментальной ошибки), и, таким образом, число или числовой диапазон могут варьировать, например, от 1% до 15% от заявленного числа или числового диапазона.

Ингибиторы SETD2

Настоящее изобретение предусматривает инновационное лечение субъектов, у которых имеется рак. Настоящее изобретение относится к удивительному и неожиданному открытию, того, что ингибирование гистоновой метилтрансферазы SETD2, несмотря на ее известные функциональные возможности в качестве супрессора опухолей, может использоваться для лечения рака, в частности рака поджелудочной железы и рака пищевода.

Лечение предусматривает, *inter alia*, введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества ингибитора гистоновой метилтрансферазы SETD2 и лечение рака.

Используемый в данном документе термин "ингибитор SETD2" или "SETD2-ингибитор" относится к любой молекуле или соединению, которые модулируют, например подавляют, активность SETD2 человека. Например, ингибитор SETD2 может ингибировать активность гистоновой метилтрансферазы SETD2. Например, ингибитор SETD2 может представлять собой соединение, которое проявляет биохимическую 50% ингибирующую концентрацию (IC_{50}) по отношению к SETD2 в анализе очищенного фермента от приблизительно 1 нМ до приблизительно 10000 нМ, от приблизительно 1 нМ до приблизительно 1000 нМ, от приблизительно 1 нМ до приблизительно 500 нМ, от приблизительно 1 нМ и приблизительно 100 нМ, от приблизительно 1 нМ до приблизительно 50 нМ или от приблизительно 1 нМ до приблизительно 10 нМ.

В некоторых вариантах осуществления "подавление (или ингибирование) активности SETD2 человека" относится к ингибированию триметилирования лизина-36 гистона 3.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2 может представлять собой, например, полипептид, ДНК или РНК. Ингибитор SETD2 может также представлять собой, например, молекулу, которая специфически связывается с полипептидом SETD2, молекулу, которая специфически связывается с лигандом полипептида SETD2, антисыворотку против полипептида SETD2, растворимому полипептиду SETD2 или растворимому полипептиду SETD2, содержащему, фактически состоящему или состоящему из внеклеточного домена полипептида SETD2.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2 может также представлять собой, например, антитело, которое специфически связывается с

полипептидом SETD2 или антигенсвязывающим фрагментом антитела, который специфически связывается с полипептидом SETD2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой поликлональное, моноклональное, мышинное, человеческое, гуманизированное или химерное антитело. Моноклональные и поликлональные антитела к SETD2 являются коммерчески доступными и могут быть приобретены, например, у Thermo Fisher Scientific и Millipore Sigma. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент представляет собой фрагмент Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, sdFv, VH-домен или VL-домен.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2 может также представлять собой, например, RNAi, miRNA, siRNA, shRNA, антисмысловую РНК, антисмысловую ДНК, молекулу-ловушку, ДНК-ловушку, двухнитевую ДНК, одонитевую ДНК, комплексную ДНК, инкапсулированную ДНК, вирусную ДНК, плазмидную ДНК, "голую" РНК, инкапсулированную РНК, вирусную РНК, двухнитевую РНК, молекулу, способную обеспечивать РНК-интерференцию, или их комбинации, которые гибридизируются с нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид SETD2.

Подавление SETD2 также может быть достигнуто с помощью технологий редактирования генов. В некоторых вариантах осуществления ингибитором SETD2 может быть, например, система коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (CRISPR)-Cas9. Системы CRISPR-Cas9 были описаны в литературе со случаями применения в биологии рака, и могут включать в себя, например, нуклеазу Cas9 и одиночную направляющую РНК (sgRNA). См., Sanchez-Rivera, F.J. and Jacks, T., "Applications of the CRISPR-Cas9 System in Cancer Biology," *Nat Rev Cancer* 15: 387-395 (2015); Chen, S. et al., "CRISPR-Cas9: from Genome Editing to Cancer Research," *Int. J. Biol. Sci.* 12: 1427-1436 (2016). Например, субъекту может быть введена sgRNA, нацеленная на ген SETD2, вместе с нуклеазой Cas9, что приводит в результате к удалению конкретной последовательности гена SETD2, приводя в результате к снижению активности SETD2 (т. е. ингибированию триметилирования лизина-36 гистона H3). В частности, для удаления доменов SET, AWS, PS, SRI или WW можно использовать CRISPR-Cas9. Неограничивающий пример системы CRISPR-Cas9 содержит целевую последовательность sgRNA № 1, имеющую последовательность AGCACCAGTAACAGAGCCAG (SEQ ID NO: 5), целевую последовательность sgRNA № 2, имеющую последовательность GACTGTGAACGGACAACCTGA (SEQ ID NO: 6), и mRNA Cas9. В некоторых вариантах осуществления sgRNA и mRNA Cas9 могут также содержаться каждая в отдельных векторах. В некоторых вариантах осуществления обе sgRNA могут содержаться в первом векторе, и mRNA Cas9 может содержаться во втором векторе. В некоторых вариантах осуществления sgRNA и mRNA Cas9 могут все содержаться в одном векторе. Специалистам в данной области известны реагенты и способы составления системы CRISPR-Cas9 для введения субъекту, нуждающемуся в этом.

В дополнение к системам на основе CRISPR-Cas9 для ингибирования SETD2 могут

использоваться другие альтернативные системы на основе CRISPR, такие как, например, система CRISPR/Cpf1 бактерии *Francisella novicida*. См., Zetsche, B. et al., *Cell* 163:759-771 (2015); Fonfara, I et al., *Nature* 532: 517-521 (2016).

В дополнение к системам на основе CRISPR для ингибирования SETD2 можно применять другие методы редактирования генов, такие как, например, нуклеазы с "цинковыми пальцами" (ZFN), эффекторные нуклеазы, подобные активаторам транскрипции (TALEN), и сконструированные хоуминг-мега-нуклеазы. См., например, Maeder, M.L. and Gersbach, C.A., "Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy," *Mol. Ther.* 24: 430-446 (2016); Gaj, T. et al., "ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering," *Trends Biotechnol* 31:397-405 (2013); Perez-Pinera, P. et al., "Advances in targeted genome editing," *Curr Opin Chem Biol* 16:268-277 (2012).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2, используемый в способах по настоящему изобретению, представляет собой небольшую молекулу (т. е. молекулу с молекулярной массой менее чем приблизительно 1500 г/моль, например, от приблизительно 100 г/моль до приблизительно 1500 г/моль) химического соединения, которое селективно целенаправленно воздействует и подавляет один или несколько эффектов SETD2. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный ингибитор SETD2 представляет собой производное синефунгина. Синефунгин представляет собой аналог S-аденозилметионина (SAM). В некоторых вариантах осуществления аналог синефунгина представляет собой N-алкил- (метил-, этил-, пропил-, бензил-) синефунгин. В некоторых вариантах осуществления N-алкил синефунгин представляет собой N-пропилсинефунгин (Pr-SNF) или N-бензилсинефунгин (Bn-SNF). Синтез производных синефунгина и профиль их ингибирования относительно метилтрансферазы SETD2 человека описан в Zheng, W. et al., *J. Am. Chem. Soc.* 134:18004-18014 (2012), который включен посредством ссылки в полном его объеме.

В одном варианте осуществления ингибитор SETD2 представляет собой антисмысловую нуклеиновую кислоту или олигонуклеотид, который полностью или частично комплементарен целевой нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SETD2 (ДНК или РНК), и может гибридизоваться с ней. Например, антисмысловая нуклеиновая кислота или олигонуклеотид могут быть комплементарны 5'- или 3'-нетранслируемым областям, или могут перекрывать кодон инициации трансляции (5'-нетранслируемые и транслируемые области) по меньшей мере одной молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей SETD2. В качестве неограничивающих примеров антисмысловые олигонуклеотиды могут нацелены на гибридизацию со следующими областями: кэп-область mRNA, сайт инициации трансляции; сайт терминации трансляции; сайт инициации транскрипции; сайт терминации транскрипции; сигнал полиаденилирования; 3'-нетранслируемая область; 5'-нетранслируемая область; 5'-кодирующая область, средняя область кодирования; 3'-кодирующая область; сайты инициации репликации ДНК и элонгации.

В некоторых вариантах осуществления могут быть сконструированы

олигонуклеотиды, которые будут связываться с дуплексной нуклеиновой кислотой (т. е. ДНК:ДНК или ДНК:РНК) с образованием устойчивой тройной спирали или триплексной нуклеиновой кислоты. Такие триплексные олигонуклеотиды могут ингибировать транскрипцию и/или экспрессию нуклеиновой кислоты, кодирующей SETD2. Триплексные олигонуклеотиды конструируются с использованием правил спаривания оснований при образовании тройной спирали.

В другом дополнительном варианте осуществления в настоящем способе можно использовать олигонуклеотиды, которые содержат фрагменты, содержащие не встречающиеся в природе части. Таким образом, олигонуклеотиды могут содержать измененные фрагменты сахаров или связи между сахарами. Иллюстративными примерами среди таковых являются фосфоротиоат и другие серосодержащие соединения, которые известны из уровня техники. В предпочтительных вариантах осуществления по меньшей мере одна из сложных фосфодизфирных связей олигонуклеотида была замещена структурой, которая действует для усиления способности композиций проникать в область клеток, где расположена РНК, активность которой подлежит модулированию. Предпочтительно, чтобы такие замены содержали фосфоротиоатные связи, метилфосфонатные связи или короткоцепочечные алкильные или циклоалкильные структуры.

В других вариантах осуществления фосфодизфирные связи замещены структурами, которые являются одновременно по сути неионными и нехиральными, или структурами, которые являются хиральными и энантимерно специфическими. Специалисты средней квалификации в данной области смогут выбрать другие связи для применения в раскрытых способах, включая инвертированные конечные нуклеотиды. Олигонуклеотиды могут также включать в себя соединения, которые включают по меньшей мере некоторые модифицированные формы оснований. Таким образом, также можно использовать пурины и пиримидины, отличные от тех, которые встречаются в природе. Подобным образом также могут быть модифицированы фуранозильные части нуклеотидных субъединиц. Примерами таких модификаций являются 2'-О-алкил- и 2'-галогензамещенные нуклеотиды. Некоторые неограничивающие примеры модификаций в 2'-положении фрагментов сахара включают OH, SH, SCH₃, F, OCH₃, OCN, O(CH₂), NH₂ и O(CH₂)_nCH₃, где n составляет от 1 до приблизительно 10. Такие олигонуклеотиды функционально взаимозаменяемы природными олигонуклеотидами или синтезированными олигонуклеотидами, которые имеют одно или несколько отличий от естественной структуры. Все такие аналоги охвачены данным документом при условии, что они эффективно функционируют для гибридизации с по меньшей мере одной молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей SETD2, и ингибируют таким образом ее функции.

В качестве альтернативы, векторы экспрессии, полученные из ретровирусов, аденовирусов, герпесвирусов, или вируса коровьей оспы, или из разных бактериальных плазмид могут применяться для доставки нуклеотидных последовательностей к целевому

органу, ткани или популяции клеток. Способы, которые хорошо известны специалистам в данной области, могут применяться для конструирования рекомбинантных векторов, которые будут экспрессировать последовательность нуклеиновой кислоты, комплементарную последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид SETD2 человека.

РНК-интерференция (RNAi) представляет собой процесс посттранскрипционного сайленсинга генов, который индуцирован miRNA или dsRNA (малая интерферирующая РНК; siRNA) и применяется для модуляции экспрессии генов. RNAi может использоваться в описанном в данном документе терапевтическом способе ингибирования SETD2. Обычно RNAi осуществляется за счет контакта клеток с двухнитевой siRNA или малой шпилечной РНК (shRNA). Однако манипулирование РНК вне клеток является очень трудоемким из-за чувствительности РНК к деградации. Таким образом, в данный документ также включены композиции дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), кодирующие молекулы малых интерферирующих РНК (siRNA) или молекулы промежуточных соединений siRNA (таких как shRNA), содержащие одну нить siRNA, подлежащую для использования. Соответственно, настоящая заявка предусматривает выделенную молекулу ДНК, которая включает в себя экспрессируемую матричную нуклеотидную последовательность с длиной, составляющей по меньшей мере приблизительно 16 нуклеотидов, кодирующую промежуточную siRNA, которая, являясь компонентом siRNA, опосредует РНК-интерференцию (RNAi) целевой РНК. Настоящая заявка дополнительно затрагивает использование РНК-интерференции (RNAi) для модуляции экспрессии молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих SETD2 в клетках-мишенях. Хотя терапевтические случаи применения не ограничиваются конкретным механизмом действия, RNAi может предусматривать деградацию матричной РНК (например, mRNA генов SETD2) с помощью РНК-индуцированного комплекса сайленсинга (RISC), который предупреждает трансляцию транскрибированной целевой mRNA. В качестве альтернативы она может также предусматривать метилирование геномной ДНК, которое выключает транскрипцию целевого гена. Подавление экспрессии генов, обусловленное RNAi, может быть временным или может быть более устойчивым, даже постоянным.

"Малая интерферирующая РНК" (siRNA) также может использоваться в настоящих способах в качестве ингибитора SETD2. siRNA относится к молекуле любой нуклеиновой кислоты, способной к опосредованию РНК-интерференции (RNAi) или сайленсингу генов. Например, siRNA могут представлять собой молекулы двухнитевой РНК с длиной, составляющей от приблизительно 10 до приблизительно 30 нуклеотидов, которые названы по их способности специфически интерферировать с экспрессией белка (например, экспрессией белка SETD2). В одном варианте осуществления siRNA по настоящему изобретению имеют длину 12-28 нуклеотидов, более предпочтительно длину 15-25 нуклеотидов, еще более предпочтительно длину 19-23 нуклеотида и наиболее предпочтительно длину 21-23 нуклеотида. Следовательно, предпочтительными являются

siRNA с длиной, составляющей 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 нуклеотидов. Как используется в данном документе, молекулы siRNA не должны ограничиваться молекулами, содержащими только РНК, но дополнительно включают химически модифицированные нуклеотиды и ненуклеотидные соединения. siRNA могут быть сконструированы для снижения экспрессии SETD2 в клетке-мишени за счет РНК-интерференции. siRNA могут содержать смысловую область и антисмысловую область, где антисмысловая область содержит последовательность, комплементарную последовательности mRNA для молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей SETD2, и смысловая область содержит последовательность, комплементарную антисмысловой последовательности mRNA гена. Молекула siRNA может быть собрана из двух фрагментов нуклеиновой кислоты, где один фрагмент содержит смысловый участок, а второй фрагмент содержит антисмысловую область молекулы siRNA. Смысловая область и антисмысловая область могут также быть ковалентно связаны посредством линкерной молекулы. Линкерная молекула может представлять собой полинуклеотидный линкер или линкер, не являющийся полинуклеотидным.

В одном варианте осуществления ингибитор SETD2 представляет собой siRNA SETD2 человека, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, и SEQ ID NO: 4.

UAAAGGAGGUAUAUCGAAU (SEQ ID NO: 1)

GAGAGGUACUCGAUCAUAA (SEQ ID NO: 2)

GCUCAGAGUUAACGUUUGA (SEQ ID NO: 3)

CCAAAGAUUCAGACAUUAU (SEQ ID NO: 4)

Рибозим (сокращение от "фермент рибонуклеиновой кислоты", также называемый ферментативной РНК или каталитической РНК) представляет собой молекулу РНК, которая катализирует химическую реакцию. Некоторые рибозимы могут играть важную роль в качестве терапевтических средств как ферменты, которые нацелены на определенные последовательности РНК, как биодатчики и для случаев применения в функциональной геномике и открытии генов. Рибозимы могут быть генетически сконструированы для специфического расщепления транскрипта гена из молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей SETD2, экспрессию которого требуется подавить.

Доставка гена или генетического материала внутрь клетки (частично или полностью кодирующей последовательность, которая будет снижать экспрессию SETD2) является первым шагом в лечении генной терапии любого нарушения. Большое количество способов доставки хорошо известно специалистам в данной области. Для случаев применения в генной терапии *in vivo* или *ex vivo* предпочтительно вводят нуклеиновые кислоты. Невирусные векторные системы доставки предусматривают ДНК-плазмиды, "голую" нуклеиновую кислоту и нуклеиновую кислоту в комплексе со средством доставки, таким как липосома. Вирусные векторные системы доставки включают ДНК- и РНК-вирусы, которые после доставки в клетку имеют либо эписомальные, либо интегрированные геномы.

Использование вирусных систем на основе РНК или ДНК для доставки нуклеиновых кислот предусматривает преимущества высокоразвитых процессов нацеливания вируса на конкретные клетки в организме и передачи вирусной нагрузки в ядро. Вирусные векторы могут быть введены пациентам непосредственно (*in vivo*) или могут использоваться для обработки клеток *in vitro*, и модифицированные клетки затем вводятся пациентам (*ex vivo*). Традиционные вирусные системы для доставки нуклеиновых кислот могли бы предусматривать для переноса генов ретровирусные, лентивирусные, аденовирусные, аденоассоциированные и векторы на основе вируса простого герпеса. В настоящее время вирусные векторы являются наиболее эффективным и универсальным способом переноса генов в клетки-мишени и целевые ткани. Интеграция в геном хозяина возможна с применением способов переноса генов с использованием ретровирусов, лентивирусов и аденоассоциированных вирусов, что часто приводит в результате к длительной экспрессии вставленного трансгена. Более того, высокая эффективность трансдукции наблюдалась во многих различных типах клеток и целевых тканей.

В тех случаях применения, когда предпочтительной является временная экспрессия нуклеиновой кислоты, обычно используют системы на основе аденовирусов. Векторы на основе аденовирусов способны к очень высокой эффективности трансдукции во многих типах клеток и не требуют клеточного деления. При использовании таких векторов были достигнуты высокий титр и уровни экспрессии. Этот вектор может быть получен в больших количествах в относительно простой системе. Векторы на основе аденоассоциированного вируса ("AAV") также используются для трансдукции клеток целевыми нуклеиновыми кислотами, например, в получении нуклеиновых кислот и пептидов *in vitro* и для процедур генной терапии *in vivo* и *ex vivo*.

Рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы (rAAV) являются перспективными альтернативными системами доставки генов на основе дефектного и непатогенного парвовирусного аденоассоциированного вируса 2 типа. Все векторы получены из плазмиды, которая сохраняет только инвертированные терминальные повторы AAV размером 145 п. о., фланкирующие кассету экспрессии трансгена. Ключевыми особенностями этой векторной системы являются эффективный перенос генов и устойчивая доставка трансгена благодаря интеграции в геномы клеток, подвергающихся трансдукции.

Рекомбинантные аденовирусные векторы (Ad) с дефицитом репликации преимущественно применяются в генной терапии с временной экспрессией, поскольку они могут быть получены с высоким титром и они инфицируют ряд различных типов клеток. Большинство аденовирусных векторов сконструированы так, чтобы трансген замещал гены E1a, E1b и E3 Ad; впоследствии вектор с дефектом репликации размножается в человеческих клетках клеточной линии 293, которые обеспечивают функцию удаленного гена в транс. Векторы Ad могут осуществлять трансдукцию многих типов тканей *in vivo*, включая неделящиеся, дифференцированные клетки, такие как те,

которые находятся в тканях печени, почек и мышц. Традиционные векторы Ad имеют большую способность к переносу.

Во многих случаях применения генной терапии желательно, чтобы вектор для генной терапии доставлялся с высокой степенью специфичности к конкретному типу ткани, такому как, например, глиальные клетки. Как правило, вирусный вектор модифицирован таким образом, чтобы иметь специфичность к данному типу клеток за счет экспрессии лиганда в виде слитого белка с белком вирусной оболочки на внешней поверхности вирусов. Выбранный лиганд обладает сродством к рецептору, о котором известно, что он присутствует в типе клеток, представляющем интерес.

Векторы генной терапии могут быть доставлены *in vivo* с помощью введения отдельному субъекту, как правило, с помощью системного введения (например, внутривенной, внутриопухолевой, внутрибрюшинной, внутримышечной, подкожной или внутричерепной инфузии) или местного применения. В качестве альтернативы векторы могут быть доставлены в клетки *ex vivo*, такие как клетки, эксплантированные от отдельного пациента (например, лимфоциты, аспираты костного мозга или биопсия ткани), или универсальные донорские гематопозитические стволовые клетки с последующей повторной имплантацией клеток субъекту, обычно после отбора клеток, в которые был внедрен вектор.

В одном варианте осуществления стволовые клетки применяют в процедурах *ex vivo* для трансфекции клеток и генной терапии. Преимуществом применения стволовых клеток является то, что они могут быть дифференцированы в другие типы клеток *in vitro*, или могут быть введены млекопитающим (таким как донор клеток), где они будут приживаться в соответствующем месте (как например, в костном мозге). Известны способы дифференцировки CD34⁺ клеток *in vitro* в клинически важные типы иммунных клеток с использованием цитокинов, таких как, например, GM-CSF, IFN- γ и TNF- α .

Стволовые клетки выделяют для трансдукции и дифференцировки с применением известных способов. Например, стволовые клетки могут быть выделены из клеток костного мозга путем пэннинга клеток костного мозга с помощью антител, которые связываются с нежелательными клетками, такими как CD4⁺ и CD8⁺ (Т-клетки), CD45⁺ (все В-клетки), GR-1 (гранулоциты) и Iad (дифференцированные антигенпрезентирующие клетки).

Введение ингибиторов SETD2

Подходящие способы введения ингибитора SETD2, описанные в данном документе, будут основаны на природе ингибитора (т. е. небольшая молекула, ДНК, РНК, белок, антитело) и широко известны специалистам в данной области. Ингибиторы SETD2, описанные в данном документе, могут быть введены пероральным, парентеральным, подкожным, внутривенным, внутримышечным, внутрибрюшинным, трансдермальным, интратекальным, интраназальным, трансмукозальным, внутриопухолевым, ректальным, интравагинальным или буккальным путем, или путем ингаляции. Например, могут быть выбраны внутривенная инъекция, такая как капельное вливание, внутримышечная

инъекция, внутривенная инъекция, подкожная инъекция, суппозитории, промывание кишечника, пероральные таблетки с кишечнорастворимой оболочкой и т. п., и надлежащий способ введения может быть выбран в зависимости от возраста и состояния пациента. Ингибиторы SETD2, описанные в данном документе, могут быть введены системно (например, с помощью внутривенной инъекции) или локально (например, интратекально, внутрь опухоли или внутрь лимфатического узла).

Подходящая доза ингибитора SETD2 по настоящему изобретению зависит от нескольких факторов, таких как, например, тип рака, который подлежит лечению, тяжесть, течение и стадия рака, ответная реакция рака, предшествующая терапия, клиническая история пациента и так далее, все на усмотрение лечащего врача. В некоторых вариантах осуществления доза ингибитора SETD2 составляет от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 1000 мг/кг от массы тела. В некоторых вариантах осуществления доза ингибитора SETD2 составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 500 мг/кг от массы тела. В некоторых вариантах осуществления доза ингибитора SETD2 составляет от приблизительно 0,1 мг/сутки до приблизительно 50 г/сутки; от приблизительно 0,1 мг/сутки до приблизительно 25 г/сутки; от приблизительно 0,1 мг/сутки до приблизительно 10 г/сутки; от приблизительно 0,1 мг/сутки до приблизительно 3 г/сутки или от приблизительно 0,1 мг/сутки до приблизительно 1 г/сутки. В качестве альтернативы доза ингибитора SETD2 находится в диапазоне от 1 до 2000 мг, и предпочтительно от 100 до 1000 мг на пациента.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2 можно вводить один раз или в течение серии процедур лечения, длящихся от нескольких дней до нескольких месяцев, или до тех пор, пока не произойдет выздоровление или не будет достигнуто уменьшение болезненного состояния (например, уменьшение размера опухоли).

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы SETD2, описанные в данном документе, можно давать один или несколько раз в день, неделю, месяц или год. В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 дают один раз каждый день, один раз в два дня, один раз в три дня или один раз в четыре дня. В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 дают два раза в день, три раза в день или четыре раза в день. В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 дают один раз в неделю. В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 дают один раз каждые две недели. В определенных вариантах осуществления ингибитор SETD2 дают один раз каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2 дают один раз каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2 дают один раз в месяц.

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы SETD2, описанные в данном документе, могут быть введены в исходной более высокой "нагрузочной" дозе с последующими одной или несколькими более низкими дозами. В некоторых вариантах осуществления частота введения также может изменяться. В некоторых вариантах осуществления схема дозирования может предусматривать введение исходной дозы с

последующими дополнительными дозами (или "поддерживающими" дозами) два раза в день, один раз в день, один раз в два дня, один раз в три дня или один раз в неделю. Например, схема дозирования может включать введение начальной нагрузочной дозы с последующей ежедневной поддерживающей дозой, составляющей, например, половину исходной дозы. Или схема дозирования может включать введение исходной нагрузочной дозы с последующей поддерживающей дозой, составляющей, например, половину исходной дозы через день. Или схема дозирования может включать введение трех исходных доз в течение 3 дней с последующими поддерживающими дозами, например, одного и того же количества через день.

Специалист средней квалификации в данной области поймет, что вводимая доза, путь введения и частота введения будут варьироваться в зависимости от обстоятельств конкретного субъекта, подвергаемого лечению, и с учетом таких факторов как возраст, пол, состояние здоровья и веса реципиента, состояния или нарушения, подлежащих лечению, тяжести расстройства, типа сопутствующего(-их) лечения(-й), если таковое имеется, и характера требуемого эффекта.

Специалист в данной области также поймет, что доза ингибитора SETD2 и/или частота введения могут меняться в течение курса терапии (снижаться или повышаться) в зависимости от клинического ответа пациента, побочных эффектов и т. д., или во время различных фаз терапии (т. е. лечения или поддерживающей терапии).

Фармацевтические композиции

Ингибиторы SETD2, применяемые в способах, описанных в данном документе, могут быть составлены в фармацевтические композиции, подходящие для введения субъектам, нуждающимся в этом (т. е. субъектам, страдающим раковым заболеванием). Используемый в данном документе термин "фармацевтическая композиция" относится к получению одного или нескольких средств, как описано в данном документе (например, ингибитора SETD2 или ингибитора SETD2 с одним или несколькими другими терапевтическими средствами) или их физиологически приемлемых солей или пролекарств с другими химическими компонентами, включая без ограничения фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества, смазочные средства, буферные средства, антибактериальные средства, объемообразующие средства (например, маннит), антиоксиданты (например, аскорбиновая кислота или бисульфит натрия) и т. п. Целью данной фармацевтической композиции является облегчение введения средства(-ств) субъекту.

Термины "фармацевтически приемлемый носитель", "вспомогательные вещества", "адъювант", "физиологически приемлемый носитель" и т. п. могут пониматься как ссылка на приемлемый носитель или адъювант, который может быть введен пациенту вместе с ингибитором SETD2, описанным в данном документе, и который не уничтожает или не нейтрализует его фармакологическую активность. Как используется в данном документе, фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество включает без ограничения любые растворители, дисперсионные среды или другие жидкие носители, дисперсионные

или суспендирующие добавки, разбавители, гранулирующие и/или диспергирующие средства, поверхностно-активные средства, изотонические средства, загущающие или эмульгирующие средства, консерванты, связывающие вещества, смазочные вещества или масло, краситель, подсластитель или ароматизаторы, стабилизаторы, антиоксиданты, противомикробные или противогрибковые средства, средства, регулирующие осмоляльность, средства, регулирующие pH, буферы, хелатирующие средства, криопротекторы и/или объемообразующие средства, подходящие для конкретной требуемой лекарственной формы. Различные вспомогательные вещества для получения фармацевтических композиций и методы получения композиции широко известны из уровня техники (см. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Gennaro (Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006; включенный в данный документ посредством ссылки в полном его объеме).

Иллюстративные разбавители включают без ограничения карбонат кальция или натрия, фосфат кальция, гидрофосфат кальция, фосфат натрия, лактозу, сахарозу, целлюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, каолин, маннит, сорбит и т. д. и/или их комбинации.

Иллюстративные гранулирующие и/или диспергирующие средства включают без ограничения виды крахмала, прежелатинизированные виды крахмала или микрокристаллический крахмал, альгиновую кислоту, гуаровую камедь, агар, поли(винилпирролидон), (провидон), поперечносшитый поли(винилпирролидон) (кросповидон), целлюлозу, метилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, поперечносшитую натрийкарбоксиметилцеллюлозу (кроскармеллозу), силикат магния и алюминия (VEEGUM[®]), лаурилсульфат натрия и т. д. и/или их комбинации.

Иллюстративные поверхностно активные средства и/или эмульгаторы включают без ограничения природные эмульгаторы (например, аравийская камедь, агар, альгиновую кислоту, альгинат натрия, трагакант, хондрукс, холестерин, ксантан, пектин, желатин, яичный желток, казеин, шерстяной жир, холестерин, воск и лецитин), сложные эфиры сорбитана и жирных кислот (например, полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат [TWEEN[®]80], сорбитанмонопальмитат [SPAN[®]40], глицерилмоноолеат, сложные эфиры полиоксиэтилена, сложные эфиры полиэтиленгликоля и жирных кислот (например, CREMOPHOR[®]), эфиры полиоксиэтилена (например, полиоксиэтиленлауриловый эфир [BRIJ[®]30]), PLUORINC[®]F 68, POLOXAMER[®]188 и т. д. и/или их комбинации.

Иллюстративные связывающие средства включают без ограничения крахмал, желатин, сахара (например, сахарозу, глюкозу, декстрозу, декстрин, мелассу, лактозу, лактит, маннит), аминокислоты (например, глицин), природные и синтетические смолы (например, аравийская камедь, альгинат натрия), этилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу и т. д. и их комбинации.

Иллюстративные антиоксиданты включают без ограничения альфа-токоферол, аскорбиновую кислоту, аскорбилпальмитат, бензиловый спирт, бутилированный гидроксанизол, м-крезол, метионин, бутилированный гидрокситолуол, монотиоглицерин,

метабисульфит натрия или калия, пропионовую кислоту, пропилгаллат, аскорбат натрия и т. д. и их комбинации.

Иллюстративные хелатирующие средства включают без ограничения этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), моногидрат лимонной кислоты, динатрия эдетат, фумаровую кислоту, яблочную кислоту, фосфорную кислоту, натрия эдетат, винную кислоту, тринатрия эдетат и т. д. и их комбинации.

Иллюстративные противомикробные или противогрибковые средства включают без ограничения бензалкония хлорид, бензетония хлорид, метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен, бутилпарабен, бензойную кислоту, гидроксибензойную кислоту, бензоат калия или натрия, сорбат калия или натрия, пропионат натрия, сорбиновую кислоту и т. д. и их комбинации.

Иллюстративные консерванты включают без ограничения витамин А, витамин С, витамин Е, бета-каротин, лимонную кислоту, аскорбиновую кислоту, бутилированный гидроксианизол, этилендиамин, лаурилсульфат натрия (SLS), лауриловый эфир сульфата натрия (SLES) и т. д. и их комбинации.

Иллюстративные буферы для контроля pH могут включать без ограничения фосфат натрия, цитрат натрия, сукцинат натрия, гистидин (или гистидин-HCl), малат натрия, карбонат натрия и т. д. и/или их комбинации.

Иллюстративные смазывающие средства включают без ограничения стеарат магния, стеарат кальция, стеариновую кислоту, диоксид кремния, тальк, солод, гидрогенизированные растительные масла, полиэтиленгликоль, бензоат натрия, лаурилсульфат натрия или магния и т. д. и их комбинации.

Фармацевтическая композиция или состав, описанные в данном документе, могут содержать криопротектор для стабилизации во время замораживания полинуклеотида, описанного в данном документе. Иллюстративные криопротекторы включают без ограничения маннит, сахарозу, трегалозу, лактозу, глицерин, декстрозу и т. д. и их комбинации.

Введение ингибитора SETD2 по настоящему описанию осуществляется любым из путей, обычно применяемых для приведения молекулы в полный контакт с опухолевыми клетками. Фармацевтические композиции, содержащие ингибитор SETD2, можно вводить любым подходящим способом, например, парентерально, внутрижелудочно, перорально, местно, ректально, вагинально, назально, буккально или посредством имплантированного резервуара. Используемый в данном документе термин "парентеральный" включает подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрисуставный, внутрисиновиальный, внутригрудинный, интратекальный, внутripеченочный, внутripочечный и внутричерепной методы инъекции или инфузии.

Парентеральные составы могут представлять собой однократную болюсную дозу, инфузию или нагрузочную болюсную дозу с последующей поддерживающей дозой. Такие композиции можно вводить через определенные фиксированные или варьируемые интервалы, например, два раза в неделю или один раз в неделю. В некоторых вариантах

осуществления ингибитор SETD2 вводят внутривенно.

В определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции можно вводить перорально в приемлемой лекарственной форме, включающей, например, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы. В определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции также можно вводить в форме назального аэрозоля или ингаляции. Такие композиции могут быть получены в виде растворов в солевом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, промоторов абсорбции для повышения биодоступности и/или других традиционных солюбилизующих или диспергирующих средств.

Специалистам в данной области будет понятно, что конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного пациента будет зависеть от разнообразных факторов, включая применение конкретных терапевтических средств, возраста пациента, веса тела, общего состояния здоровья, пола и диеты, а также времени введения, скорости выведения, комбинации лекарственных средств и тяжести конкретного заболевания, подлежащего лечению. Оценка таких факторов медицинскими работниками находится в пределах средней квалификации в данной области. Количество вводимого соединения также будет зависеть от конкретного пациента, подлежащего лечению, пути введения, типа состава, характеристик используемого соединения, тяжести заболевания и требуемого эффекта. Используемое количество может быть определено с помощью фармакологических и фармакокинетических принципов, хорошо известных из уровня техники.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2, как описано в данном документе, вводят в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами и/или терапевтическими процедурами. В некоторых вариантах осуществления ингибитор SETD2, как описано в данном документе, может быть введен совместно с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами и/или составлен в сочетании с ними. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, дополнительно предусматривают введение субъекту по меньшей мере одного дополнительного терапевтического средства.

Способы лечения рака

В одном аспекте настоящее изобретение предусматривает способ лечения или замедления прогрессирования рака у субъекта с помощью введения субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества ингибитора SETD2, такого как описанный выше.

Многочисленные типы форм рака можно лечить с использованием раскрытых способов и фармацевтических композиций. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из группы, состоящей из рака надпочечника, карциномы ацинарных клеток, акустической невромы, акральной лентигинозной меланомы, акроспиromы, аденокарциномы, аденокистозной карциномы, аденомы, аденоматоидной одонтогенной опухоли, аденосквамозной карциномы, неоплазмы жировой ткани, адренокортикальной карциномы, СПИД-ассоциированной лимфомы, альвеолярной рабдомиосаркомы,

альвеолярной саркомы мягких тканей, амелобластной фибромы, анапластической крупноклеточной лимфомы, анапластического рака щитовидной железы, ангиомиолипомы, ангиосаркомы, астроцитомы, атипичной тератоидной рабдоидной опухоли, базальноклеточной карциномы, рака желчных путей, рака мочевого пузыря, бластомы, рака кости, рака молочной железы, рака головного мозга, карциномы, карциномы *in situ*, карциносаркомы, опухоли хряща, цементомы, миелоидной саркомы, хондромы, хордомы, хориокарциномы, папилломы хориоидного сплетения, светлоклеточной саркомы почки, краниофарингиомы, кожной Т-клеточной лимфомы, рака шейки матки, колоректального рака, болезни Дегоса, десмопластической мелкокруглоклеточной опухоли, дизембриопластической нейроэпителиальной опухоли, дисгерминомы, эмбриональной карциномы, неоплазмы эндокринной железы, опухоли эндодермального синуса, рака пищевода, фибросаркомы, фолликулярной лимфомы, фолликулярного рака щитовидной железы, нейроганглиомы, рака желудочно-кишечного тракта, эмбрионально-клеточной опухоли, хориокарциномы матки, гигантоклеточной фибробластомы, гигантоклеточной опухоли кости, глиальной опухоли, глиобластомы, глиомы, глиоматоза головного мозга, глюкагономы, гонадобластомы, гранулезноклеточной опухоли, гинандробластомы, рака желчного пузыря, рака желудка, гемангиобластомы, рака головы и шеи, гемангиоперицитомы, гепатобластомы, гепатоклеточной карциномы, Т-клеточной лимфомы печени и селезенки, инвазивной лобулярной карциномы, рака кишечника, рака почки, рака гортани, злокачественной опухоли лентиги, смертельной срединной карциномы, лейкоза, опухоли из клеток Лейдига, липосаркомы, рака легкого, лимфангиомы, лимфангиосаркомы, лимфоэпителиомы, рака печени, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, злокачественной фиброзной гистиоцитомы, злокачественной опухоли оболочек периферических нервов, злокачественной тритон-опухоли, медиастинальной опухоли зародышевых клеток, медуллярной карциномы молочной железы, медуллярного рака щитовидной железы, медуллобластомы, меланомы, менингиомы, рака кожи из клеток Меркеля, мезотелиомы, метастатической уротелиальной карциномы, смешанной опухоли Мюллера, опухоли слизистой оболочки, неоплазмы мышечной ткани, грибовидного микоза, миксоидной липосаркомы, миксомы, миксосаркомы, назофарингеальной карциномы, невриномы, нейробластомы, нейрофибромы, невромы, узловой меланомы, рака глаза, олигоастроцитомы, олигодендроглиомы, онкоцитомы, менингиомы оболочки зрительного нерва, опухоли зрительного нерва, рака ротовой полости, остеосаркомы, рака яичника, папиллярного рака щитовидной железы, параганглиомы, пинеалобластомы, пинеоцитомы, питуицитомы, аденомы гипофиза, опухоли гипофиза, плазмоцитомы, полиэмбриомы, первичной лимфомы центральной нервной системы, первичной выпотной лимфомы, первичного рака брюшины, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, фарингеального рака, псевдомиксомы брюшины, почечно-клеточной карциномы, почечно-медуллярной карциномы, ретинобластомы, рабдомиомы, рабдомиосаркомы, рака прямой кишки, саркомы, шванноматоза, семиномы, опухоли из клеток Сертоли, опухоли

стромы полового тяжа яичника, рака кожи, мелкоклеточной карциномы, саркомы мягких тканей, соматостатиномы, опухоли спинного мозга, плоскоклеточной карциномы, синовиальной саркомы, рака тонкой кишки, сквамозной карциномы, рака желудка, рака яичка, рака щитовидной железы, переходно-клеточной карциномы, рака горла, рака мочевого протока, урогенитального рака, уротелиальной карциномы, увеальной меланомы, рака матки, веррукозной карциномы, глиомы зрительного пути, рака вульвы, рака влагалища, опухоли Уортина, опухоли Вильмса, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, аденокарциномы, плоскоклеточной карциномы пищевода, аденокарциномы желудка, аденокарциномы толстой кишки, гепатоклеточной карциномы, холангиокарциномы желчевыводящей системы, аденокарциномы желчного пузыря, аденокарциномы поджелудочной железы, протоковой карциномы *in situ* молочной железы, аденокарциномы молочной железы, аденокарциномы легких, плоскоклеточной карциномы легких, переходно-клеточной карциномы мочевого пузыря, плоскоклеточной карциномы мочевого пузыря, плоскоклеточной карциномы шейки матки, аденокарциномы шейки матки, карциномы эндометрия, плоскоклеточной карциномы полового члена и плоскоклеточной карциномы кожи.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода, рак почки, рак желудка, гепатоклеточную карциному, глиобластому, рак центральной нервной системы (CNS), рак мягких тканей, рак легкого, рак молочной железы, рак мочевого пузыря/мочевыводящих путей, рак головы и шеи, рак предстательной железы, гематологический рак, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак эндометрия, рак яичника или колоректальный рак.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологический рак, выбранный из группы, состоящей из острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), острого миелоидного лейкоза (AML), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы (SLL), множественной миеломы (MM), лимфомы Ходжкина (HL), неходжкинской лимфомы (NHL), лимфомы из клеток мантийной зоны (MCL), В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы маргинальной зоны селезенки, фолликулярной лимфомы (FL), макроглобулинемии Вальденстрема (WM), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы маргинальной зоны (MZL), волосатоклеточного лейкоза (HCL), лимфомы Беркитта (BL), трансформации Рихтера, острого эозинофильного лейкоза, острого эритроидного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого мегакариобластного лейкоза, острого моноцитарного лейкоза, острого промиелоцитарного лейкоза, острого миелогенного лейкоза, В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, В-клеточной лимфомы, MALT-лимфомы, лимфобластной лимфомы из Т-клеток-предшественников, Т-клеточной лимфомы, тучноклеточного лейкоза, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, агрессивного NK-клеточного лейкоза и ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы.

В некоторых вариантах осуществления гематологический рак выбран из группы, состоящей из острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), острого миелоидного лейкоза (AML), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы (SLL), множественной миеломы (MM), неходжкинской лимфомы (NHL), лимфомы из клеток мантийной зоны (MCL), фолликулярной лимфомы (FL), макроглобулинемии Вальденстрема (WM), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы маргинальной зоны (MZL), включая экстранодальную и узловую MZL, волосатоклеточного лейкоза (HCL), лимфомы Беркитта (BL) и трансформации Рихтера.

В некоторых вариантах осуществления рак является рефрактерным к традиционной химиотерапии.

В некоторых вариантах осуществления рак рецидивировал.

Ингибитор SETD2 (сам по себе или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами или терапевтическими процедурами), применяемый в способах, описанных в данном документе, можно вводить в любом порядке или с любыми интервалами времени, которые определены специалисты в данной области.

В некоторых вариантах осуществления лечение с применением способов, описанных в данном документе, может длиться неограниченно (т. е. в качестве поддерживающей терапии). В некоторых вариантах осуществления лечение с применением способов, описанных в данном документе, может длиться не более приблизительно 18 недель, не более приблизительно 17 недель, не более приблизительно 16 недель, не более приблизительно 15 недель, не более приблизительно 14 недель, не более приблизительно 13 недель или не более приблизительно 12 недель. В некоторых вариантах осуществления лечение длится приблизительно 12 недель. В некоторых вариантах осуществления лечение с применением способов, описанных в данном документе, может длиться от приблизительно 1 недели до приблизительно 52 недель, от приблизительно 1 недели до приблизительно 26 недель, от приблизительно 1 недели до приблизительно 12 недель, от приблизительно 1 недели до приблизительно 6 недель, от приблизительно 6 недель до приблизительно 52 недель, от приблизительно 6 недель до приблизительно 26 недель или от приблизительно 12 недель до приблизительно 52 недель. В некоторых вариантах осуществления лечение с применением способов, описанных в данном документе, может длиться более чем 52 недели.

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано следующим примером, который не должен рассматриваться как дополнительное ограничение. Содержание всех патентных и непатентных ссылок, цитируемых по всей данной заявке, в полном объеме включено в настоящий документ посредством ссылки.

ПРИМЕРЫ

Пример 1.

Проплиферация клеточных линий аденокарциномы протоков поджелудочной

железы (PDAC)**зависит от SETD2**

Объединенный скрининг с помощью CRISPR 249 раковых клеточных линий и нетрансформированную клеточную линию MCF10A (контроль) инфицировали объединенным лентивирусом, содержащим библиотеку CRISPR-sgRNA, нацеленную на различные гены, в том числе SETD2 человека. Клеточные линии получали от банков клеток ATCC, DSMZ или JCRB. Каждый столбец на графиках **фиг. 1А** и **1В** представляет собой клеточную линию. Показатель LogP на оси Y графика представляет собой истощение конкретной мишени в клеточной популяции. Следовательно, показатель LogP указывает на зависимость каждой клеточной линии от конкретного гена. В данном случае выживание каждой клеточной линии с показателем LogP ниже -2,5 было зависимым от SETD2. Все клеточные линии и их средний LogP, а также средние значения кратности изменений представлены в **таблице 1**.

На **фиг. 1А** показан график для всех 250 исследованных клеточных линий. На **фиг. 1В** показан график для клеточных линий, происходящих из аденокарциномы протоков поджелудочной железы (PDAC). Следует отметить, что на **фиг. 1В** показано, что несколько клеточных линий рака поджелудочной железы были в значительной степени чувствительны к истощению гена SETD2.

В дополнение к демонстрации того, что клеточные линии, полученный из рака поджелудочной железы, были чувствительны к истощению SETD2, на **фиг. 1А** показано, что дополнительные клеточные линии рака проявляли чувствительность к истощению SETD2, включая клеточные линии рака молочной железы, пищевода, почки, легкого, желудка, мочевого пузыря/мочевыводящих путей, эндометрия, кожи, кроветворных клеток (DLBCL и AML), мягких тканей, CNS и яичника.

Таблица 1

КЛЕТОЧНАЯ ЛИНИЯ	Средн. значение (LOGP)	Медиана (КРАТНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЯ)
NCIH661_LUNG	-0,1735	1,24
KP4_PANCREAS	-0,178	1,45
CALU3_LUNG	-0,216	1,03
OAW42_OVARY	-0,3125	1,15
A704_KIDNEY	-0,328	1,02
KYSE410_OESOPHAGUS	-0,351	1,19
NCIH522_LUNG	-0,397	1,01
CHP212_AUTONOMIC_GANGLIA	-0,425	0,97
NCIH1703_LUNG	-0,4445	1,01
BICR18_UPPER_AERODIGESTIVE_	-0,446	0,96

TRACT		
RCCGS_KIDNEY	-0,4525	1,05
VMRCRCW_KIDNEY	-0,5475	1,21
A498_KIDNEY	-0,568833333	1,09
NCIH460_LUNG	-0,614	0,91
SF9427_CENTRAL_NERVOUS_SYSTE M	-0,6315	1
RCCMF_KIDNEY	-0,6355	0,77
LIXC004NA_LIVER	-0,636	0,86
NCIH2347_LUNG	-0,6575	0,5
SKNDZ_AUTONOMIC_GANGLIA	-0,6835	0,97
JHOC5_OVARY	-0,732	1,06
RCCFG2_KIDNEY	-0,750333333	0,97
NCIH2030_LUNG	-0,7615	0,86
KU1919_URINARY_TRACT	-0,7745	0,98
HUPT4_PANCREAS	-0,785	0,99
SW780_URINARY_TRACT	-0,7915	1,03
LK2_LUNG	-0,804	1,05
RKO_LARGE_INTESTINE	-0,805	0,91
JMSU1_URINARY_TRACT	-0,8125	0,98
TE5_OESOPHAGUS	-0,827	0,83
SKNFI_AUTONOMIC_GANGLIA	-0,8295	1,27
SW403_LARGE_INTESTINE	-0,8315	0,55
NCIH2196_LUNG	-0,836	0,89
U2OS_BONE	-0,8545	0,87
CLS439_URINARY_TRACT	-0,88525	0,64
RT4_URINARY_TRACT	-0,887	1,02
5637_URINARY_TRACT	-0,891	0,79
SKNSH_AUTONOMIC_GANGLIA	-0,891	0,79
SKOV3_OVARY	-0,9	1,01
KYSE150_OESOPHAGUS	-0,912666667	0,8
OV7_OVARY	-0,959	0,82
RCCER_KIDNEY	-0,959	1,09
KURAMOCHI_OVARY	-0,9725	0,79

A2780_OVARY	-0,9855	0,7
KYSE270_OESOPHAGUS	-0,992	0,91
647V_URINARY_TRACT	-1,004	0,89
ECGI10_OESOPHAGUS	-1,0145	0,9
SJSA1_BONE	-1,0145	1,05
VMCUB1_URINARY_TRACT	-1,0145	0,89
SNU349_KIDNEY	-1,024	1,09
ACHN_KIDNEY	-1,0245	0,95
DMS114_LUNG	-1,031	1,02
KYSE70_OESOPHAGUS	-1,032333333	0,97
KMBC2_URINARY_TRACT	-1,034	1,17
EFO027_OVARY	-1,049	0,83
RMGI_OVARY	-1,056	0,89
SBC5_LUNG	-1,056	0,95
EOL1_HAEMATOPOIETIC_AND_ LYMPHOID_TISSUE	-1,063	0,93
LS411N_LARGE_INTESTINE	-1,0845	0,77
TE14_OESOPHAGUS	-1,0875	0,81
NCIH2085_LUNG	-1,101	0,77
P31FUJ_HEMATOPOIETIC_AND_ LYMPHOID_TISSUE	-1,1065	0,79
RERFLCAI_LUNG	-1,1215	0,9
GP2D_LARGE_INTESTINE	-1,1285	0,81
NCIH1993_LUNG	-1,1445	0,97
HCC15_LUNG	-1,1625	0,71
NCIH1299_LUNG	-1,163888889	0,77
TE8_OESOPHAGUS	-1,1805	0,84
COV434_OVARY	-1,187	0,85
LS1034_LARGE_INTESTINE	-1,19	0,96
HSC3_UPPER_AERODIGESTIVE_ TRACT	-1,19	0,77
TE6_OESOPHAGUS	-1,206	0,84
SNU1272_KIDNEY	-1,2085	0,41
PANC0213_PANCREAS	-1,2185	0,17

QGP1_PANCREAS	-1,23	0,61
SW1271_LUNG	-1,23	0,66
CAKI2_KIDNEY	-1,2305	0,88
LS180_LARGE_INTESTINE	-1,248	0,71
OCI-AML5_HEMATOPOIETIC_AND_LYMPHOID_TISSUE	-1,279	0,78
NCIH2172_LUNG	-1,2835	0,65
HCC1187_BREAST	-1,3055	0,74
T47D_BREAST	-1,318	0,79
NCIH1734_LUNG	-1,321	0,32
NOMO1_HEMATOPOIETIC_AND_LYMPHOID_TISSUE	-1,3215	0,49
CAL54_KIDNEY	-1,326	0,84
DLD1_LARGE_INTESTINE	-1,35	0,96
UMUC3_URINARY_TRACT	-1,359	0,89
KNS42_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	-1,367	0,64
TUHR4TKB_KIDNEY	-1,3755	0,82
A427_LUNG	-1,4055	0,68
NCIH1975_LUNG	-1,408	0,69
IALM_LUNG	-1,4165	0,67
DV90_LUNG	-1,4285	0,8
A549_LUNG	-1,431285714	0,7
KMRC2_KIDNEY	-1,439	0,77
SCC25_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	-1,4405	0,44
TYKNU_OVARY	-1,447	0,9
NCIH2066_LUNG	-1,4545	0,81
NCIH1563_LUNG	-1,46	0,57
NCIH1944_LUNG	-1,462	0,62
RCCWK_KIDNEY	-1,4705	0,79
NCIH1793_LUNG	-1,471	0,76
J82_URINARY_TRACT	-1,4795	0,83
NCIH1693_LUNG	-1,4845	0,84
CAOV3_OVARY	-1,493	0,62

OE19_OESOPHAGUS	-1,5155	0,96
BFTC909_KIDNEY	-1,522	0,79
SW900_LUNG	-1,5305	0,7
RT112_URINARY_TRACT	-1,5405	0,85
KYSE510_OESOPHAGUS	-1,5415	0,86
HPAFII_PANCREAS	-1,549	0,62
BT549_BREAST	-1,5525	0,55
MCF10A_BREAST_ NONTRANSFORMED	-1,567	0,51
HT1376_URINARY_TRACT	-1,571	0,77
SNGM_ENDOMETRIUM	-1,5735	0,81
OVISE_OVARY	-1,574	0,48
SAOS2_BONE	-1,592	0,72
NCIH1573_LUNG	-1,5945	0,69
NCIH441_LUNG	-1,606	0,53
NCIH2122_LUNG	-1,6135	0,76
COLO680N_OESOPHAGUS	-1,6205	0,62
T84_LARGE_INTESTINE	-1,625	0,71
DMS53_LUNG	-1,6325	0,79
T24_URINARY_TRACT	-1,635	0,74
TCCSUP_URINARY_TRACT	-1,635666667	0,67
MDAMB134VI_BREAST	-1,6395	0,93
HS766T_PANCREAS	-1,654	0,39
TUHR14TKB_KIDNEY	-1,7	0,73
MDAMB453_BREAST	-1,7065	0,7
639V_URINARY_TRACT	-1,707	0,65
YD8_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	-1,724	0,49
TUHR10TKB_KIDNEY	-1,7265	0,55
NB1_AUTONOMIC_GANGLIA	-1,773333333	0,89
HCT116_LARGE_INTESTINE	-1,791	0,8
OCI-AML2_HEMATOPOIETIC_AND_ LYMPHOID_TISSUE	-1,804	0,77
BC3C_URINARY_TRACT	-1,805	0,76
BT20_BREAST	-1,8375	0,75

RCCJW_KIDNEY	-1,8425	0,67
HSC2_UPPER_AERODIGESTIVE_ TRACT	-1,851	0,74
ECA109_OESOPHAGUS	-1,868	0,57
HS578T_BREAST	-1,868	0,47
CALU6_LUNG	-1,886	0,87
TT_OESOPHAGUS	-1,8865	0,75
NCIH2023_LUNG	-1,8945	0,55
SCABER_URINARY_TRACT	-1,902	0,79
HEC1A_ENDOMETRIUM	-1,902	0,66
TE15_OESOPHAGUS	-1,903	0,67
KMRC20_KIDNEY	-1,9115	0,81
SW1710_URINARY_TRACT	-1,9165	0,86
OSRC2_KIDNEY	-1,9175	0,74
KYSE180_OESOPHAGUS	-1,9365	0,85
HEC151_ENDOMETRIUM	-1,952	0,6
HCC1428_BREAST	-1,953	0,68
786O_KIDNEY	-1,957666667	0,6
HEC1B_ENDOMETRIUM	-1,9855	0,53
NCIH520_LUNG	-1,991	0,75
NCIH1048_LUNG	-2,0155	0,71
PSN1_PANCREAS	-2,026	0,75
SKNBE2_AUTONOMIC_GANGLIA	-2,027	0,82
C2BBE1_LARGE_INTESTINE	-2,032	0,68
NCIH1792_LUNG	-2,0345	0,66
NCIH838_LUNG	-2,0475	0,5
NCIH2126_LUNG	-2,048	0,53
NCIH226_LUNG	-2,066	0,46
PAXC010_PANCREAS	-2,079	0,64
HOS_BONE	-2,09	0,79
RC124_KIDNEY	-2,1005	0,61
SKNAS_AUTONOMIC_GANGLIA	-2,1005	0,5
HSC4_UPPER_AERODIGESTIVE_ TRACT	-2,123	0,51

SKBR3_BREAST	-2,1235	0,63
SNU423_LIVER	-2,1285	0,69
HCT15_LARGE_INTESTINE	-2,139	0,86
CAL29_URINARY_TRACT	-2,15	0,51
P31FUJ_HAEMATOPOIETIC_AND_LYMPHOID_TISSUE	-2,166	0,55
TE1_OESOPHAGUS	-2,1685	0,7
HBCLS2_URINARY_TRACT	-2,172	0,53
OCIM2_HAEMATOPOIETIC_AND_LYMPHOID_TISSUE	-2,1835	0,79
NCIH358_LUNG	-2,184	0,6
NCIH23_LUNG	-2,2455	0,48
HT1197_URINARY_TRACT	-2,275	0,45
ASPC1_PANCREAS	-2,2835	0,81
KYSE140_OESOPHAGUS	-2,369	0,61
MDAMB157_BREAST	-2,396	0,21
HPAC_PANCREAS	-2,398	0,72
HCC1143_BREAST	-2,414	0,39
NCIH2110_LUNG	-2,4255	0,76
THP1_HEMATOPOIETIC_AND_LYMPHOID_TISSUE	-2,4375	0,81
KARPAS422_HAEMATOPOIETIC_AND_LYMPHOID_TISSUE	-2,4535	0,54
BFTC905_URINARY_TRACT	-2,4675	0,68
PANC0203_PANCREAS	-2,478	0,56
PAXC003_PANCREAS	-2,4795	0,63
YD10B_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	-2,5015	0,62
CAKI1_KIDNEY	-2,5105	0,49
SUM149PT_BREAST	-2,5225	0,43
GII_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	-2,523	0,49
PANC0504_PANCREATIC	-2,5245	0,6
PANC1_PANCREAS	-2,548	0,8
SCC4_UPPER_AERODIGESTIVE_TRAC	-2,5855	0,47

T		
PANC0403_PANCREAS	-2,6325	0,38
MDAMB468_BREAST	-2,66	0,58
OCIM1_HAEMATOPOIETIC_AND_ LYMPHOID_TISSUE	-2,667	0,5
NUGC3_STOMACH	-2,6765	0,6
VMRCRCZ_KIDNEY	-2,7035	0,67
HCC1937_BREAST	-2,7325	0,42
MFE280_ENDOMETRIUM	-2,745	0,5
HS729_SOFT_TISSUE	-2,757	0,67
MG63_BONE	-2,784	0,7
PANC0813_PANCREAS	-2,784	0,49
HBCLS1_URINARY_TRACT	-2,789333333	0,56
HUPT3_PANCREAS	-2,806	0,62
MDAMB361_BREAST	-2,827	0,72
PAXC008_PANCREAS	-2,8395	0,63
TE10_OESOPHAGUS	-2,8645	0,7
OE33_OESOPHAGUS	-2,8795	0,54
PAX012_PANCREAS	-2,8885	0,09
NCIH727_LUNG	-2,89	0,55
A375_SKIN	-2,921666667	0,49
RT11284_URINARY_TRACT	-2,9565	0,77
SKM1_HEMATOPOIETIC_AND_ LYMPHOID_TISSUE	-2,98	0,74
FARAGE_HAEMATOPOIETIC_AND_ LYMPHOID_TISSUE	-3,016	0,62
MDAMB231_BREAST	-3,1095	0,51
NCIH810_LUNG	-3,1445	0,66
TE11_OESOPHAGUS	-3,192	0,7
OV90_OVARY	-3,252	0,65
SU8686_PANCREAS	-3,296	0,53
LS123_LARGE_INTESTINE	-3,345	0,33
OCI-AML3_HEMATOPOIETIC_AND_ LYMPHOID_TISSUE	-3,3725	0,74

HCC827_LUNG	-3,411	0,54
CAPAN1_PANCREAS	-3,4135	0,42
KP2_PANCREAS	-3,4225	0,55
SW1990_PANCREAS	-3,4765	0,06
MIAPACA2_PANCREAS	-3,51475	0,72
YD38_UPPER_AERODIGESTIVE_ TRACT	-3,588	0,46
MDAMB436_BREAST	-3,621	0,49
BXPC3_PANCREAS	-3,7085	0,46
UBLCL1_URINARY_TRACT	-3,724	0,64
OVMANA_OVARY	-3,736	0,64
769P_KIDNEY	-3,762714286	0,49
NCIH322_LUNG	-3,8915	0,49
PANC1005_PANCREAS	-3,917	0,37
TE4_OESOPHAGUS	-3,948666667	0,34
HCC1806_BREAST	-4,0125	0,36
MDAMB415_BREAST	-4,1585	0,37
NCIH647_LUNG	-4,1735	0,43
KYSE30_OESOPHAGUS	-4,227	0,32
PANC0327_PANCREAS	-4,233	0,39
CAPAN2_PANCREAS	-4,2915	0,5
TE9_OESOPHAGUS	-4,457	0,42
HCC38_BREAST	-5,106	0,32
OE21_OESOPHAGUS	-5,314	0,49
MOLM13_HEMATOPOIETIC_AND_ LYMPHOID_TISSUE	-7,1595	0,31

Валидация результатов объединенного скрининга с помощью CRISPR. SU8686 представляет собой клеточную линию, полученную из аденокарциномы протоков поджелудочной железы. Клеточные линии инфицировали вирусами с CRISPR, содержащими две sgRNA, нацеленные на два сайта SETD2. Пролиферацию клеточных линий измеряли путем автоматизированного подсчета клеток с течением времени. Как показано на **фиг. 2В**, было обнаружено, что комбинации sgRNA, где были включены одна или обе из двух sgRNA, нацеленных на активный сайт SETD2, оказывали сильно выраженный эффект в отношении пролиферации этой клеточной линии рака поджелудочной железы. Напротив, sgRNA, которые были нацелены на отрицательный

контроль, SMARCA2, не оказывали эффекта в отношении пролиферации клеток.

Данные о пролиферации, приведенные на **фиг. 2В**, были затем подтверждены с использованием секвенирования нового поколения (NGS) сайтов, вырезанных с помощью sgRNA, как показано на **фиг. 2С** и **2D**. Гистограммы на **фиг. 2С** и **2D** показывают генотипы клеток, которые пережили инфекцию с течением времени. Столбцы гистограммы, заполненные , показывают долю в процентах аллелей дикого типа (неразрезанных); столбцы белого цвета показывают вставки и делеции в рамке считывания (возможно, неинактивирующие); и столбцы, заполненные , показывают вставки и делеции вне рамки считывания (неактивирующие). Как показано на **фиг. 2С**, при действии sgRNA для SETD2, инфицирующих клетки, через некоторое время популяция аллелей дикого типа (неразрезанных) увеличивалась, что указывает на то, что клетки с функционально активным SETD2 имеют преимущество в выживании по сравнению с клетками с нефункциональным вариантом SETD2. Напротив, на **фиг. 2D** показано, что генотип, ассоциированный с sgRNA для SMARCA2, остается неизменным с течением времени, что указывает на то, что активность SMARCA2 не является необходимым условием жизнеспособности и роста клеточной линии SU8686.

В заключение, на **фиг. 2В-D** на основе анализа с использованием двух sgRNA показано, что пролиферация клеточной линии PDAC, SU8686, зависит от SETD2.

Скрининг с помощью CRISPR пула доменов распознает домен SET. В этом скрининге использовали sgRNA, нацеленные на всю длину гена SETD2 (изображен на **фиг. 3А**). Домены, которые важны для функции кодируемого белка, подвергаются истощению в большей степени, чем другие области белка. Это обусловлено тем, что функциональные домены имеют гораздо более низкую переносимость мутаций по сравнению с другими областями. Как показано на **фиг. 3В**, скрининг с помощью CRISPR доменов клеточной линии рака пищевода OE21 показывает очень сильный сигнал истощения из домена SET и "ассоциированного с SET" (AWS) домена SETD2 (показан на **фиг. 3А**), что указывает на то, что нацеленное воздействие на домен SET/активный сайт SETD2, например, с помощью низкомолекулярного ингибитора, будет приводить в результате к фенотипу роста (т. е. сниженной пролиферации) в этой клеточной линии.

Краткое описание двойного анализа валидации мишени. Краткое описание исследований валидации мишени представлено в таблице на **фиг. 4**. Результаты объединенного скрининга с помощью CRISPR для выбранных клеточных линий показаны в колонке "Eripool". Результаты объединенного скрининга с помощью CRISPR конкретных доменов показаны в колонке "Пул Epidomain". Такие результаты указывают на то, что для эффекта необходим домен SET гена SETD2. Валидация результатов объединенного скрининга с помощью CRISPR в клеточных линиях с использованием

анализа CRISPR с использованием двух sgRNA (**фиг. 2B**) и подтверждение с помощью NGS (как показано на **фиг. 2C** и **фиг. 2D**) показана в колонках "Пролиферация" и "NGS" на **фиг. 4**. Ячейки, помеченные как , обозначают чувствительные; ячейки, помеченные серым, обозначают нечувствительные; ячейки, помеченные как , указывают на неубедительные результаты; ячейки белого цвета указывают на то, что данные не доступны.

Выводы На основе анализа с использованием двойного сигнала РНК (sgRNA), клеточная линия SU8686 рака поджелудочной железы, а также несколько других клеточных линий, происходящих из рака, таких как, например, полученные из молочной железы, яичника, легкого, желудка, почки, пищевода, мочевого пузыря, CNS, мягкой ткани и кожи, зависят от активности SETD2 в отношении их жизнеспособности и роста, а также, в частности, от домена SET. Таким образом, ингибирование гистоновой метилтрансферазы SETD2 (в частности, с использованием низкомолекулярных ингибиторов, таких как алкилсинефунгины) имеет широкие случаи применения в лечении многочисленных раковых заболеваний, и особенно рака поджелудочной железы.

Настоящее изобретение было описано выше с помощью функциональных стандартных блоков, иллюстрирующих осуществление указанных функций и их отношений. Границы таких функциональных стандартных блоков были произвольно определены в данном документе для удобства описания. Альтернативные границы могут быть определены при условии, что указанные функции и их отношения осуществляются соответствующим образом.

Вышеуказанное описание конкретных вариантов осуществления будет настолько полно раскрывать общую природу настоящего изобретения, что другие могут с использованием знаний в данной области техники легко модифицировать и/или адаптировать для различных случаев применения такие конкретные варианты осуществления без излишнего экспериментирования, не отступая от общей концепции настоящего изобретения. Следовательно, такие адаптации и модификации предназначены для того, чтобы соответствовать значению и диапазону эквивалентов раскрытых вариантов осуществления на основе представленного в данном документе описания и руководства. Следует понимать, что фразеология или терминология в данном документе используется с целью описания, а не ограничения, так что терминология или фразеология настоящего описания должны интерпретироваться квалифицированным специалистом с учетом текущих сведений и руководства.

Все патенты и публикации, упомянутые в настоящем описании, указывают на уровне специалистов средней квалификации в данной области, к которой относится настоящее изобретение. Все патенты и публикации включены в данный документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация была специально и индивидуально указана для включения в качестве ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества ингибитора SETD2.

2. Способ уменьшения или ингибирования пролиферации раковой клетки, предусматривающий (i) приведение в контакт раковой клетки с эффективным количеством ингибитора SETD2 и (ii) уменьшение или ингибирование пролиферации указанной раковой клетки.

3. Способ по п. 1 или п. 2, где ингибитор SETD2 выбран из группы, состоящей из полипептида, ДНК и РНК.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где ингибитор SETD2 представляет собой (i) выделенную связывающую молекулу, которая специфически связывается с полипептидом SETD2; (ii) выделенную связывающую молекулу, которая специфически связывается с лигандом полипептида SETD2; или (iii) антисыворотку против полипептида SETD2.

5. Способ по любому из пп. 1-4, где ингибитор представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, который специфически связывается с полипептидом SETD2.

6. Способ по п. 5, где антитело представляет собой поликлональное, моноклональное, мышинное, человеческое, гуманизированное или химерное антитело.

7. Способ по п. 5, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой фрагмент Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, sdFv, VH-домен или VL-домен.

8. Способ по любому из пп. 1-3, где ингибитор SETD2 представляет собой RNAi, miRNA, siRNA, shRNA, антисмысловую РНК, антисмысловую ДНК, молекулу-ловушку, ДНК-ловушку, двухнитевую ДНК, одонитевую ДНК, комплексную ДНК, инкапсулированную ДНК, вирусную ДНК, плазмидную ДНК, "голую" РНК, инкапсулированную РНК, вирусную РНК, двухнитевую РНК, молекулу, способную обеспечивать РНК-интерференцию, или их комбинации, которые гибридизируются с нуклеотидной последовательностью, кодирующей полипептид SETD2, в жестких условиях, или систему редактирования генов.

9. Способ по п. 8, где ингибитор SETD2 представляет собой siRNA, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-4.

10. Способ по п. 8, где система редактирования генов представляет собой CRISPR/Cas9.

11. Способ по любому из пп. 1-3, где ингибитор SETD2 представляет собой низкомолекулярное соединение.

12. Способ по п. 11, где низкомолекулярное соединение представляет собой производное синефунгина, выбранное из группы, состоящей из N-пропилсинефунгина и N-бензилсинефунгина.

13. Способ по любому из пп. 1-12, где рак или раковая клетка выбраны из группы, состоящей из рака надпочечника, карциномы ацинарных клеток, акустической невромы, акральной лентигинозной меланомы, акроспиromы, аденокарциномы, аденокистозной

карциномы, аденомы, аденоматоидной одонтогенной опухоли, аденосквамозной карциномы, неоплазмы жировой ткани, адренокортикальной карциномы, СПИД-ассоциированной лимфомы, альвеолярной рабдомиосаркомы, альвеолярной саркомы мягких тканей, амелобластной фибромы, анапластической крупноклеточной лимфомы, анапластического рака щитовидной железы, ангиомиолипомы, ангиосаркомы, астроцитомы, атипичной тератоидной рабдоидной опухоли, базальноклеточной карциномы, рака желчных путей, рака мочевого пузыря, бластомы, рака кости, рака молочной железы, рака головного мозга, карциномы, карциномы *in situ*, карциносаркомы, опухоли хряща, цементомы, миелоидной саркомы, хондромы, хордомы, хориокарциномы, папилломы хориоидного сплетения, светлоклеточной саркомы почки, краниофарингиомы, кожной Т-клеточной лимфомы, рака шейки матки, колоректального рака, болезни Дегоса, десмопластической мелкокруглоклеточной опухоли, дизембриопластической нейроэпителиальной опухоли, дисгерминомы, эмбриональной карциномы, неоплазмы эндокринной железы, опухоли эндодермального синуса, рака пищевода, фибросаркомы, фолликулярной лимфомы, фолликулярного рака щитовидной железы, нейроганглиомы, рака желудочно-кишечного тракта, эмбрионально-клеточной опухоли, хориокарциномы матки, гигантоклеточной фибробластомы, гигантоклеточной опухоли кости, глиальной опухоли, глиобластомы, глиомы, глиоматоза головного мозга, глюкагономы, гонадобластомы, гранулезноклеточной опухоли, гинандробластомы, рака желчного пузыря, рака желудка, гемангиобластомы, рака головы и шеи, гемангиоперицитомы, гепатобластомы, гепатоклеточной карциномы, Т-клеточной лимфомы печени и селезенки, инвазивной лобулярной карциномы, рака кишечника, рака почки, рака гортани, злокачественной опухоли лентиги, смертельной срединной карциномы, лейкоза, опухоли из клеток Лейдига, липосаркомы, рака легкого, лимфангиомы, лимфангиосаркомы, лимфоэпителиомы, рака печени, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, злокачественной фиброзной гистиоцитомы, злокачественной опухоли оболочек периферических нервов, злокачественной тритон-опухоли, медиастинальной опухоли зародышевых клеток, медуллярной карциномы молочной железы, медуллярного рака щитовидной железы, медуллобластомы, меланомы, менингиомы, рака кожи из клеток Меркеля, мезотелиомы, метастатической уротелиальной карциномы, смешанной опухоли Мюллера, опухоли слизистой оболочки, неоплазмы мышечной ткани, грибовидного микоза, миксоидной липосаркомы, миксомы, миксосаркомы, назофарингеальной карциномы, невриномы, нейробластомы, нейрофибромы, невромы, узловой меланомы, рака глаза, олигоастроцитомы, олигодендроглиомы, онкоцитомы, менингиомы оболочки зрительного нерва, опухоли зрительного нерва, рака ротовой полости, остеосаркомы, рака яичника, папиллярного рака щитовидной железы, параганглиомы, пинеалобластомы, пинеоцитомы, питуицитомы, аденомы гипофиза, опухоли гипофиза, плазмоцитомы, полиэмбриомы, первичной лимфомы центральной нервной системы, первичной выпотной лимфомы, первичного рака брюшины, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, фарингеального рака, псевдомиксомы брюшины, почечно-клеточной карциномы,

почечно-медуллярной карциномы, ретинобластомы, рабдомиомы, рабдомиосаркомы, рака прямой кишки, саркомы, шванноматоза, семиномы, опухоли из клеток Сертоли, опухоли стромы полового тяжа яичника, рака кожи, мелкоклеточной карциномы, саркомы мягких тканей, соматостатиномы, опухоли спинного мозга, плоскоклеточной карциномы, синовиальной саркомы, рака тонкой кишки, сквамозной карциномы, рака желудка, рака яичка, рака щитовидной железы, переходно-клеточной карциномы, рака горла, рака мочевого протока, уrogenитального рака, уротелиальной карциномы, увеальной меланомы, рака матки, веррукозной карциномы, глиомы зрительного пути, рака вульвы, рака влагалища, опухоли Уортина, опухоли Вильмса, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, аденокарциномы, плоскоклеточной карциномы пищевода, аденокарциномы желудка, аденокарциномы толстой кишки, гепатоклеточной карциномы, холангиокарциномы желчевыводящей системы, аденокарциномы желчного пузыря, аденокарциномы поджелудочной железы, протоковой карциномы *in situ* молочной железы, аденокарциномы молочной железы, аденокарциномы легких, плоскоклеточной карциномы легких, переходно-клеточной карциномы мочевого пузыря, плоскоклеточной карциномы мочевого пузыря, плоскоклеточной карциномы шейки матки, аденокарциномы шейки матки, карциномы эндометрия, плоскоклеточной карциномы полового члена и плоскоклеточной карциномы кожи.

14. Способ по п. 13, где рак представляет собой рак поджелудочной железы, или раковая клетка происходит из рака поджелудочной железы, или рак представляет собой рак пищевода, или раковая клетка происходит из рака пищевода.

15. Способ по любому из пп. 1-12, где рак или раковая клетка выбраны из группы, состоящей из рака пищевода, рака почки, рака желудка, гепатоклеточной карциномы, глиобластомы, рака центральной нервной системы (CNS), рака мягких тканей, рака легкого, рака молочной железы, рака мочевого пузыря/мочевыводящих путей, рака головы и шеи, рака предстательной железы, гематологического рака, рака поджелудочной железы, рака кожи, рака эндометрия, рака яичника и колоректального рака.

16. Способ по любому из пп. 1-12, где рак или раковая клетка представляет собой гематологический рак, или раковая клетка происходит из гематологического рака.

17. Способ по п. 16, где гематологический рак выбран из группы, состоящей из острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), острого миелоидного лейкоза (AML), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы (SLL), множественной миеломы (MM), лимфомы Ходжкина (HL), неходжкинской лимфомы (NHL), лимфомы из клеток мантийной зоны (MCL), В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы маргинальной зоны селезенки, фолликулярной лимфомы (FL), макроглобулинемии Вальденстрема (WM), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы маргинальной зоны (MZL), волосатоклеточного лейкоза (HCL), лимфомы Беркитта (BL), трансформации Рихтера, острого эозинофильного лейкоза, острого эритроидного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого мегакариобластного лейкоза, острого моноцитарного лейкоза, острого промиелоцитарного

лейкоза, острого миелогенного лейкоза, В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, В-клеточной лимфомы, MALT-лимфомы, лимфобластной лимфомы из Т-клеток-предшественников, Т-клеточной лимфомы, тучноклеточного лейкоза, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, агрессивного NK-клеточного лейкоза и ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы.

18. Способ по любому из п. 1 или пп. 3-17, где субъект является млекопитающим.

19. Способ по любому из п. 1 или пп. 3-17, где субъект является человеком.

20. Способ по любому из п. 1 или пп. 3-19, где ингибитор SETD2 составлен для системного или локального введения.

21. Способ по любому из п. 1 или пп. 3-20, где ингибитор SETD2 составлен для перорального, назального, внутривентриального или внутримышечного введения.

22. Способ по любому из п. 1 или пп. 3-20, где ингибитор SETD2 составлен для внутривенного введения, внутримышечного введения или подкожного введения.

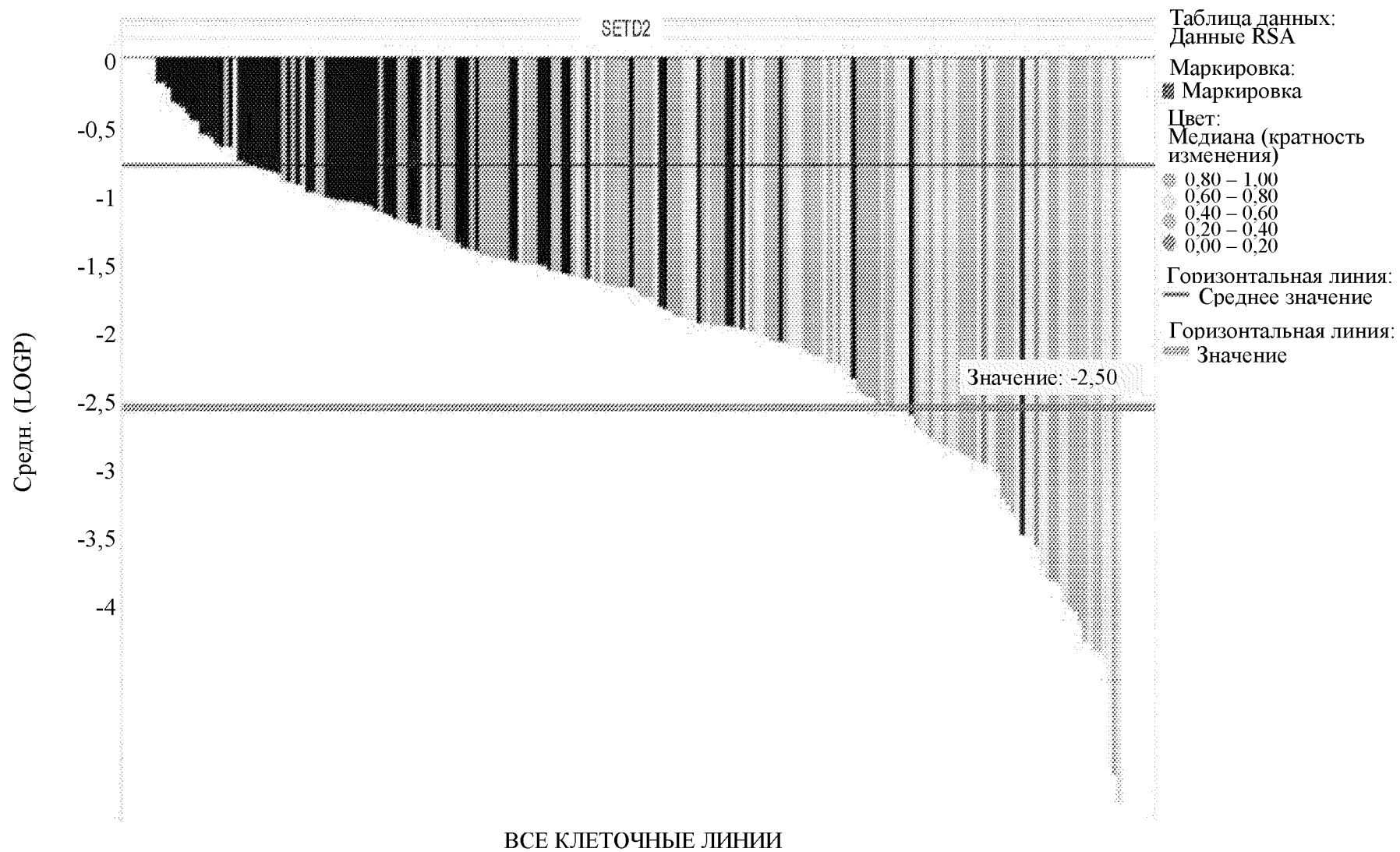
23. Способ по любому из пп. 1-22, дополнительно включающий стадию введения одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

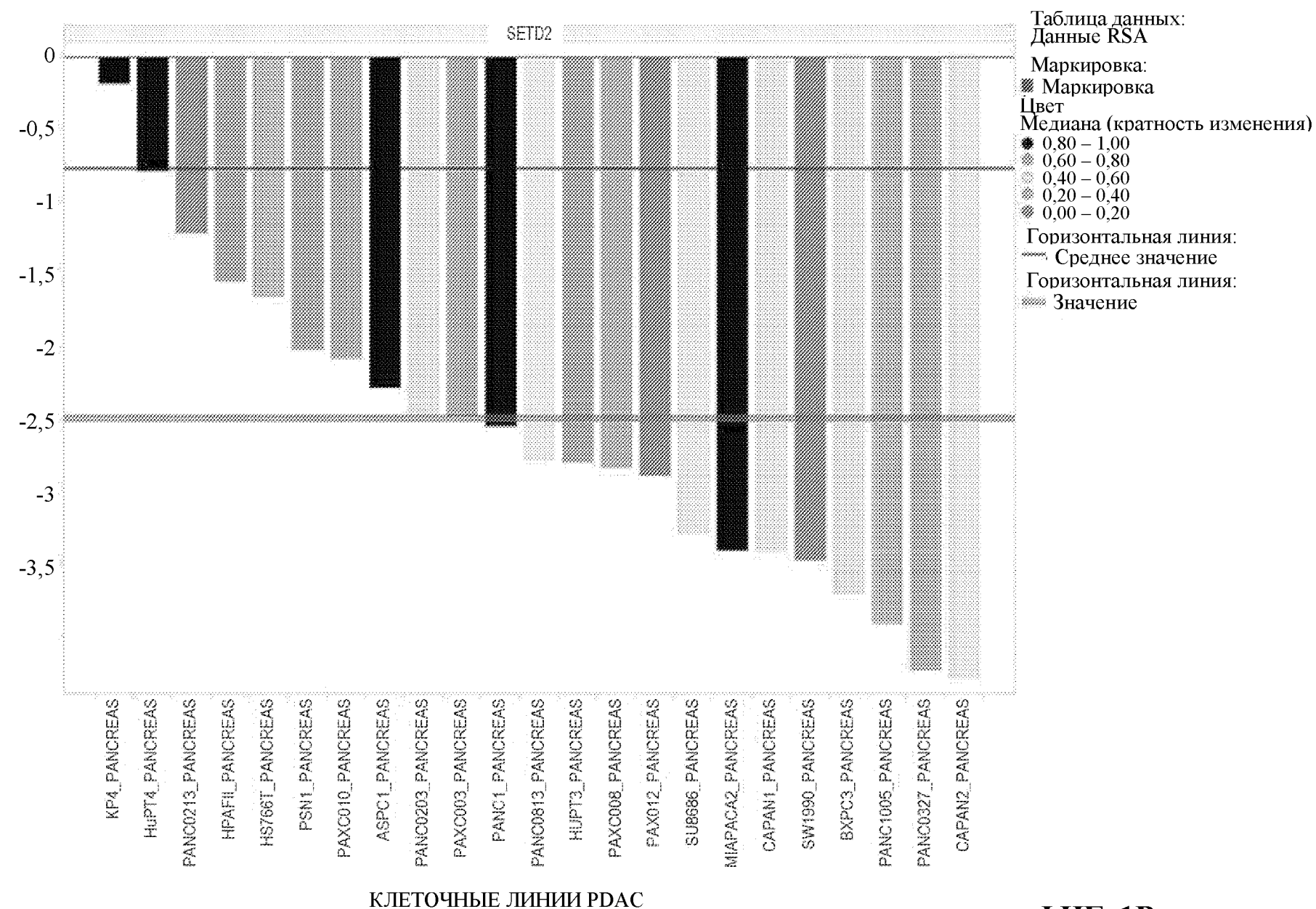
24. Способ по любому из пп. 1-23, где ингибитор SETD2 ингибирует триметилирование лизина-36 в гистоне H3 (H3K36me3).

25. Ингибитор SETD2 для применения в способе лечения рака по любому из п. 1 или пп. 3-24.

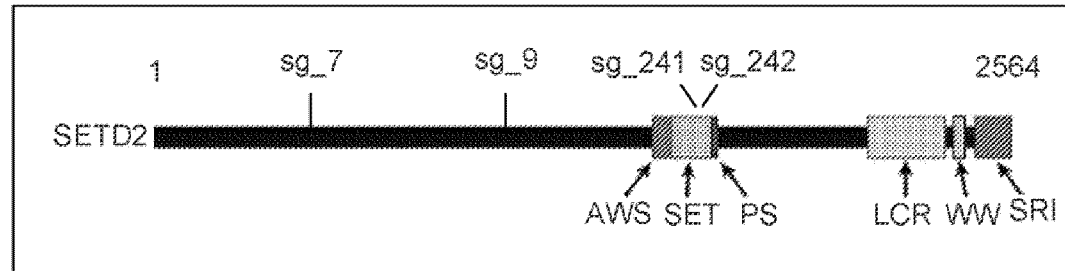
26. Способ лечения рака, включающий ингибирование активности SETD2 у субъекта, нуждающегося в этом.

По доверенности

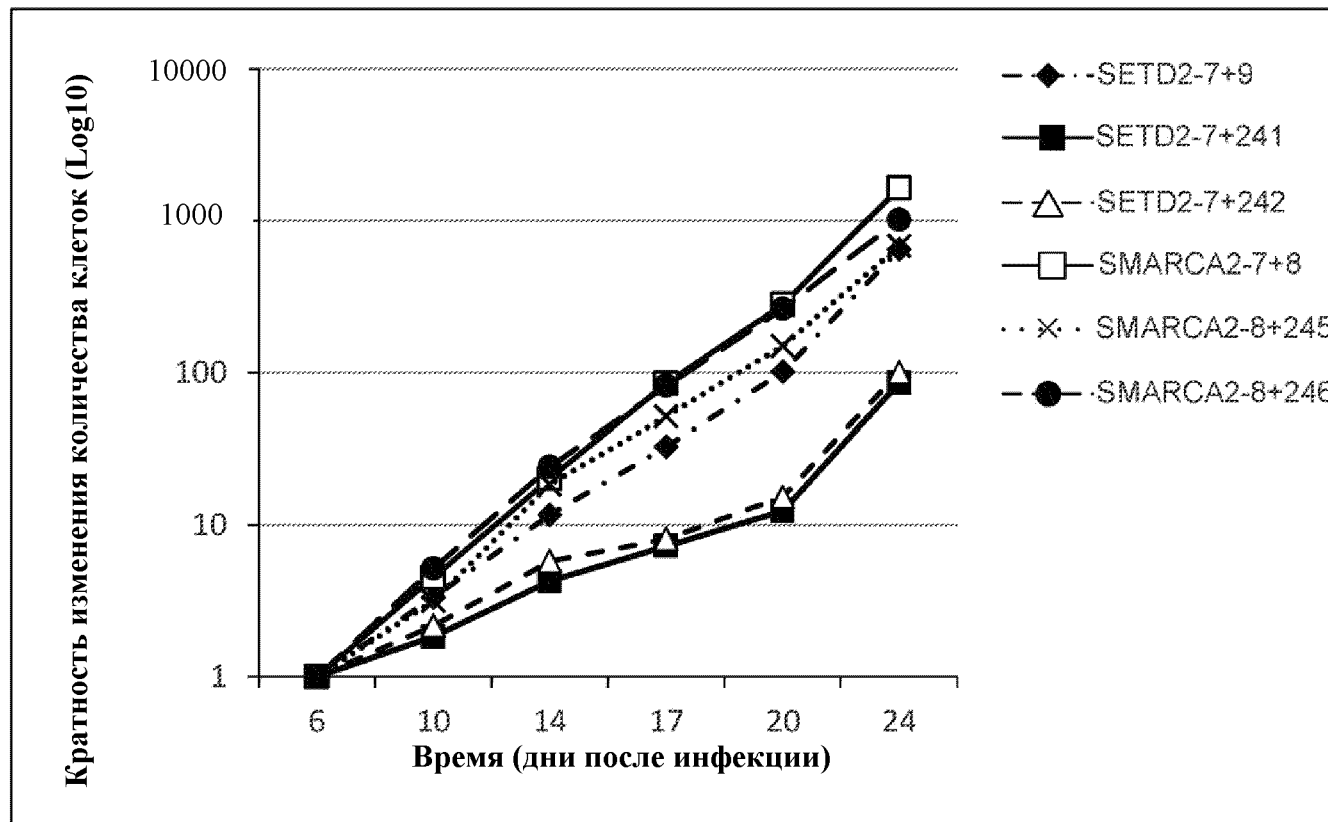




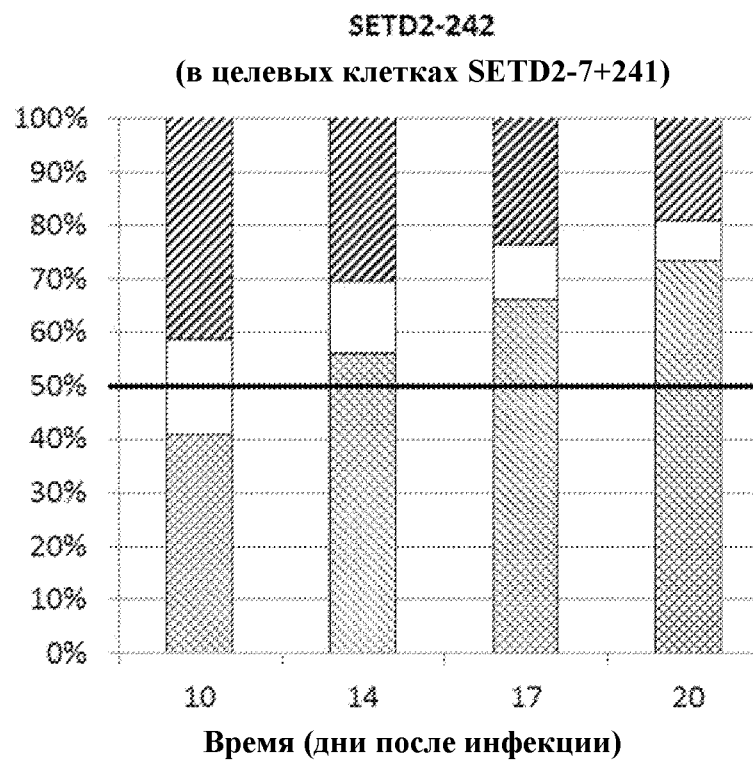
ФИГ. 1В



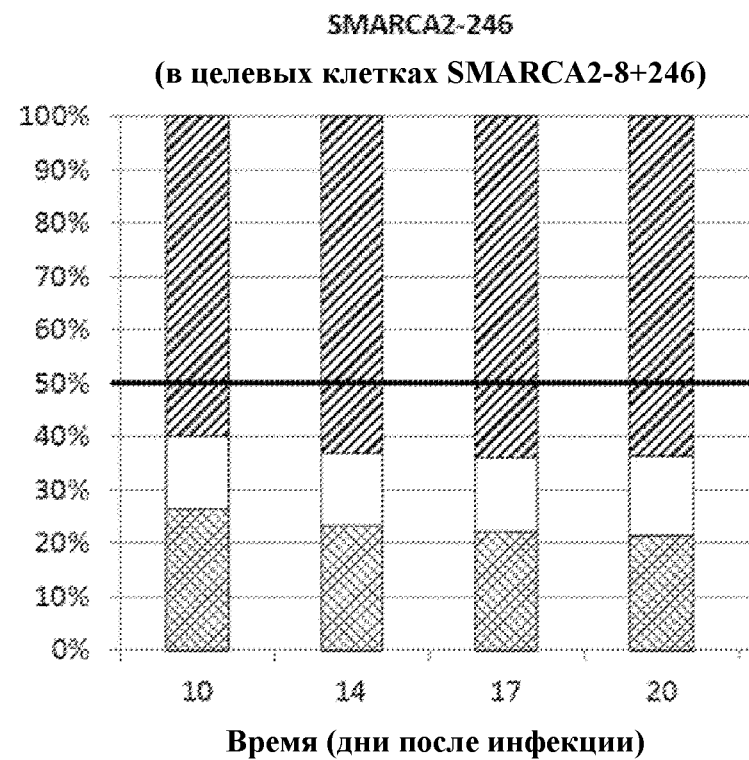
ФИГ. 2А



ФИГ. 2В

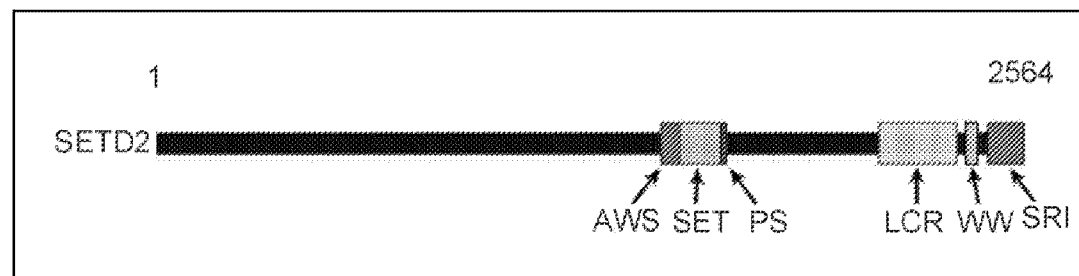


ФИГ. 2С

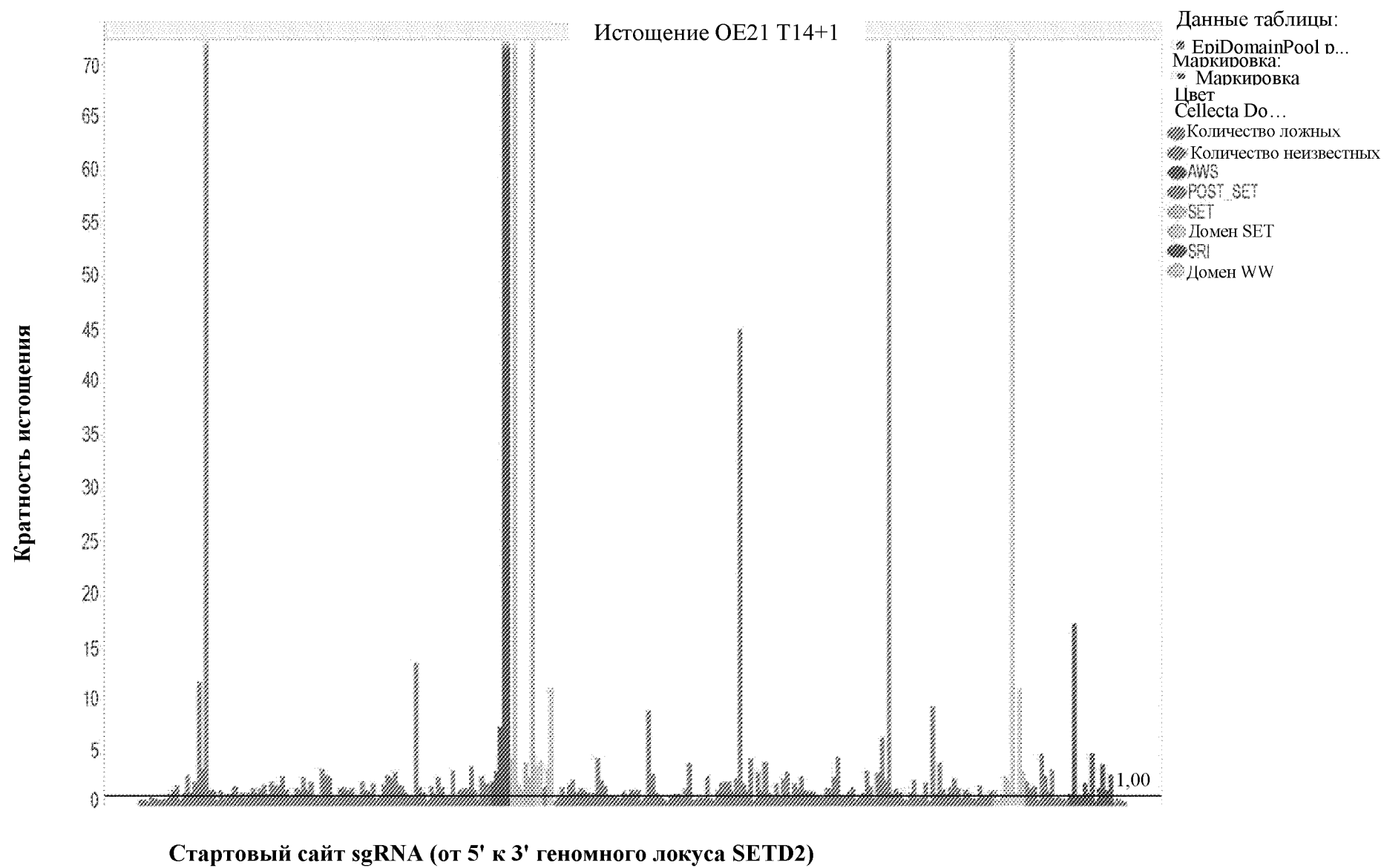


ФИГ. 2D

-  Вставка/делеция вне рамки считывания
-  Вставка/делеция внутри рамки считывания
-  Дикий тип

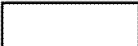


ФИГ. 3А



ФИГ. 3В

Клеточная линия	Указание	EpiPool	Пул EpiDomain	Двойной анализ	
				Пролиферация	NGS
OE21	Пищевода				
SW1990	Поджелудочной железы				
SU8686	Поджелудочной железы				
HUP-T4	Поджелудочной железы				
CAPAN2	Поджелудочной железы				
A549	Легкого				
RKO	Толстой кишки				
KP4	Поджелудочной железы				
HPAF-II	Поджелудочной железы				

 Нечувствительные
  Чувствительные
  Неоднозначные
  Нет данных

ФИГ. 4