

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045060**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.27

(51) Int. Cl. **G01N 33/574 (2006.01)**
C07K 16/28 (2006.01)

(21) Номер заявки
201992217

(22) Дата подачи заявки
2017.06.02

(54) **БЕЛКОВЫЙ МАРКЕР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ,
СПОСОБ ИЗМЕРЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА МАРКЕРА И АЛГОРИТМ ИНТЕРПРЕТАЦИИ
РЕЗУЛЬТАТА**

(43) **2020.04.01**

(86) **PCT/RU2017/000386**

(87) **WO 2018/222069 2018.12.06**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ПРОСТАГНОСТ" (RU)**

(56) **US-A1-20140296096**

**ZHANG S. et al. "A Cystine Knot Peptide
Targeting Integrin $\alpha v \beta 6$ for Photoacoustic and
Fluorescence Imaging of Tumors in Living Subjects".
J. Nuc. Med. 2016; 57(10), p. 1629-1634, especially,
p. 1629**

(72) Изобретатель:
Земскова Марина Юрьевна (RU)

(74) Представитель:
Котлов Д.В. (RU)

(57) Изобретение относится к области биологии и медицины, а именно к онкологии, и может быть использовано для диагностики рака предстательной железы (РПЖ). Для этого используют новый маркер РПЖ, выявляемый в цельной моче пациента, представляющий собой интегрин альфа V или его фрагмент. Предлагается также способ диагностики РПЖ, включающий выявление в цельной моче пациента интегрина альфа V. Техническим результатом изобретения является нахождение нового диагностического маркера рака предстательной железы, позволяющего осуществлять неинвазивную диагностику РПЖ с использованием простого, чувствительного, надежного способа, применимого в условиях стандартной клинической лаборатории клинических или поликлинических медицинских учреждений.

B1

045060

**045060
B1**

Изобретение относится к области биологии и медицины, а именно к онкологии, и может быть использовано для диагностики рака предстательной железы.

Уровень техники

После рака кожи рак простаты (рак предстательной железы, РПЖ) - наиболее часто диагностируемая форма рака. Во многих странах РПЖ является второй/третьей по распространенности причин смерти мужчин в возрасте после 40 лет. В настоящее время считается, что важнейшим фактором борьбы с РПЖ является ранняя диагностика.

Традиционным и наиболее распространенным методом выявления РПЖ является тест на ПСА (простатспецифический антиген, prostate specific antigen PSA) в сыворотке крови (Stamey T.A. et al. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate // N. Engl. J. Med. 1987 Oct 8; 317(15):909-16). Однако за 30 лет клинической практики накопился большой объем статистических данных, свидетельствующих о низкой специфичности ПСА как онкомаркера, что проявляется в виде значительного числа ложноположительных результатов. Поэтому внимание многих исследователей сосредоточено на поиске новых онкомаркеров.

Востребованными в медицинской практике могут быть два разных метода диагностики РПЖ: первый - неинвазивный, быстрый, легкий, реализуемый на стандартном для клинической лаборатории оборудовании, который может использоваться для рутинных/серийных анализов при диспансеризации, обследовании населения, мониторинге групп риска, мониторинге рецидивов, мониторинге хода болезни, мониторинге терапии и др.; второй - метод, необходимый для окончательного дифференциального анализа, для которого единственным важнейшим параметром является близкая к 100% точность.

В настоящее время активно исследуется ряд биомаркеров рака простаты (например, PCA3, TMPRSS2:ERG, PSCA (prostate stem cell antigen), AMCAR), которые определяются неинвазивными методиками за счет измерения их количества в моче (см., например, Koo K.M. et al. Colorimetric TMPRSS2-ERG Gene Fusion Detection in Prostate Cancer Urinary Samples via Recombinase Polymerase Amplification // Theranostics., 2016 Jun 15; 6(9):1415-24; Deras I.L. et al., PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome // J. Urol. 2008 Apr; 179(4):1587-92). Однако эти маркеры требуют для своего обнаружения использования достаточно дорогостоящих методов, основанных на полимеразной цепной реакции и/или иммуногистохимическом исследовании, и эти анализы сложно произвести в рамках стандартной клинической лаборатории.

В последнее время активно исследуется возможность диагностики РПЖ по биомаркерам экзосом мочи. Так, например, патент US 7897356 B2 раскрывает способ диагностики РПЖ путем идентификации биосигнала на экзосомах, включающий захват и выделение экзосом с использованием обычных поверхностных белков экзосом CD63, CD9 или CD81, а затем качественный и количественный анализ уровня специфических для РПЖ маркеров PSMA, PSCA, EpCam, V7H3 (CD276). Также известен способ и набор для количественной оценки и определения экзосом для диагностики рака предстательной железы и гиперплазии предстательной железы (US 20130196355 A1), основанный на иммуноферментном анализе с использованием анти-Rab5 в качестве улавливающего антитела для выделения всех экзосом, из которых в последующем выделяют экзосомы с помощью анти-PSA детектирующего антитела и сравнивают уровень таких экзосом с эталонным. Однако, во-первых, биомаркер, подходящий для неинвазивной, быстрой, реализуемой на стандартном для клинической лаборатории оборудовании диагностики РПЖ, так и не был найден; а во-вторых, выделение экзосом, необходимое для реализации вышеупомянутых способов, - весьма нетривиальная задача, нерешаемая для большинства клинических лабораторий. Таким образом, несмотря на существующие исследования по диагностике РПЖ, медицинская практика диспансеризации населения, а также задачи мониторинга групп риска, хода болезни, ее терапии и рецидивов нуждаются в рутинном методе анализа РПЖ, реализуемом на стандартном оборудовании.

Раскрытие изобретения

Задачей и техническим результатом изобретения является нахождение нового диагностического маркера рака предстательной железы (РПЖ), позволяющего осуществлять неинвазивную диагностику заболевания, а также разработка на его основе простого, чувствительного, надежного, применимого в условиях стандартной клинической лаборатории клинических или поликлинических медицинских учреждений способа диагностики РПЖ.

Поставленная задача решается за счет применения для диагностики РПЖ нового биомаркера, представляющего собой интегрин альфа V или его фрагмент, выявляемого в цельной моче пациента. Согласно изобретению интегрин альфа V или его фрагмент могут быть использованы в качестве биомаркера путем их выявления как в виде отдельных субъединиц, так и в составе гетеродимеров интегринов, таких как $\alpha\beta1$, $\alpha\beta3$, $\alpha\beta5$, $\alpha\beta6$ и/или $\alpha\beta8$.

Задача также решается при осуществлении способа диагностики РПЖ, включающего выявление в цельной моче пациента интегрин альфа V или его фрагмента.

При этом при обнаружении интегрин альфа V или его фрагмента в цельной моче в количестве от 20 нг/мл диагностируют отсутствие рака предстательной железы.

В некоторых вариантах изобретения при осуществлении способа диагностики РПЖ проводят дополнительные клинические, лабораторные и/или инструментальные обследования.

В некоторых частных вариантах осуществления изобретения дополнительные клинические, лабораторные и/или инструментальные методы обследования проводят, если количество интегрин альфа V или его фрагмента, обнаруженного в моче пациента, составляет 20 нг/мл или менее этого уровня.

Также задача решается путем разработки набора для проведения диагностики рака предстательной железы в цельной моче пациента, который включает по меньшей мере одно антитело или его функциональный фрагмент, специфичное к интегрину альфа V или его фрагменту и не обладающее кросспецифичностью к другим пептидам мочи.

В некоторых вариантах изобретения набор представляет собой тест-систему для проведения твердофазного иммуноферментного анализа.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1. Результаты измерений интегрин альфа V в утренней моче мужчин старше 50 лет: n - число измерений. Горизонтальная линия - 20 нг/мл биомаркера.

Фиг. 2. Результаты математической обработки данных, приведенных на фиг. 1. По оси X - концентрация интегрин альфа V, нг/мл, по оси Y - вероятность обнаружения интегрин альфа V в моче различных групп обследуемых. Вертикальные линии - математические ожидания.

Термины и определения

В настоящем описании термины "включает" и "включающий" интерпретируются как означающие "включает, помимо всего прочего". Указанные термины не предназначены для того, чтобы их истолковывали как "состоит только из".

Термин "РПЖ" расшифровывается как рак предстательной железы, "ДГПЖ" подразумевает доброкачественные образования простаты (аденома, простатит), и термин "норма" описывает образцы, полученные от индивидуумов старше 50 лет без патологий предстательной железы.

Под термином "цельная моча" подразумеваются образцы мочи, как не подвергавшиеся никакой обработке, так и образцы, полученные после центрифугирования, фильтрации или других процедур, позволяющих отделить растворимые компоненты мочи от нерастворимой фракции.

Под "маркером" или "биомаркером", если не указано иное, в настоящем описании подразумевается интегрин альфа V (идентификационный номер UniProtKB P06756-1) и его изоформы (P06756-2; P06756-3).. Интегрин альфа V (другие названия - α V, CD51, MSK8, vitronectin receptor α (VNR α)) - мембранный белок, гликопротеин из надсемейства интегринов, продукт гена ITGaV, находящегося на 2-й хромосоме в положении 2q31-q32.

Используемый здесь термин "антитело" касается целого иммуноглобулина или его фрагмента, например, типа Fab или (Fab)₂, сохраняющего антигенсвязывающую активность. Это может быть встречающееся в природе антитело или антитело, полученное путем иммунизации (в том числе, например, химерное антитело или гуманизированное антитело), или рекомбинантное антитело, построенное с помощью методов генной инженерии.

В настоящем описании под антителом или его фрагментом подразумевается антитело, специфически связывающееся с интегрином альфа V или его фрагментом и не обладающее кросспецифичностью к другим белкам (пептидам, их фрагментам) мочи, т.е. такое антитело, которое обладает (значительно) большей аффинностью к интегрину альфа V или его фрагменту, чем к другим белкам (пептидам, их фрагментам) мочи.

В диагностическом наборе по настоящему изобретению могут быть использованы антитела, которые можно получить от поставщиков или же эти антитела могут быть получены упомянутыми выше или иными способами.

Без дальнейшего уточнения предполагается, что на основе приведенного выше описания квалифицированный в данной области специалист способен применить настоящее изобретение во всей его полноте. Приведенные далее варианты являются только иллюстративными. Они никаким образом не ограничивают раскрытие настоящего изобретения. Все цитируемые публикации включены в виде ссылок.

Возможность объективного проявления технического результата при использовании изобретения подтверждена достоверными данными, приведенными в примерах, содержащих сведения экспериментального характера, полученными в процессе проведения исследований по методикам, принятым в данной области. Сущность изобретения поясняется графическими материалами.

Нижеследующие примеры приведены в целях иллюстрирования способа согласно настоящему изобретению и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения.

Подробное раскрытие изобретения

Интегрин альфа V (HGNC: 6150; Entrez Gene: 3685; Ensembl: ENSG00000138448; OMIM: 193210; UniProtKB: P06756) - мембранный белок, гликопротеин из надсемейства интегринов, продукт гена ITGaV, находящегося на 2-й хромосоме в положении 2q31-q32. Интегрин альфа V состоит из 1048 аминокислот. Зрелая молекула интегрин альфа V представляет собой гликопротеин длиной 1018 аминокислот (см. SEQ ID NO: 1), молекулярная масса белковой части - 116,0 кДа.

Зрелая молекула интегрин альфа V образует гетеродимерный комплекс с интегрин альфа-1, бета-3, бета-5, бета-6 или бета-8. Интегрины с альфа V являются рецепторами для ряда лигандов, распозна-

вая последовательность аргинин-глицин-аспартат (R-G-D). Интегрины с альфа V участвуют во многих процессах развития эмбриона, в ангиогенезе и остеопорозе.

В ходе проведенных исследований неожиданно было обнаружено, что количественное содержание интегрин альфа V в цельной моче коррелирует с заболеванием раком предстательной железы, что позволило использовать его в качестве биомаркера для диагностики РПЖ, а также позволило разработать на основе нового биомаркера новый метод диагностики РПЖ. Количественное определение интегрин альфа V в цельной моче позволяет осуществлять неинвазивную диагностику заболевания, а простая методика проведения анализа позволяет использовать предлагаемый метод в условиях стандартной клинической лаборатории клинических или поликлинических медицинских учреждений.

Изобретением также охватываются наборы для проведения диагностики РПЖ по изобретению. Такие наборы включают антитела против интегрин альфа V или его фрагментов, которые могут быть выявлены как в виде отдельных субъединиц, так и в составе гетеродимеров, таких как гетеродимерные комплексы с интегринами бета-1, бета-3, бета-5, бета-6 и/или бета-8. Согласно изобретению могут быть использованы любые антитела или их фрагменты, специфически связывающиеся с интегрином альфа V и не обладающие кросспецифичностью к другим пептидам мочи. К таким антителам могут относиться, но не ограничиваются ими, как любые известные из уровня техники антитела/фрагменты антител против интегрин альфа V

(например: Polyclonal Antibody to Integrin Alpha V (ITGaV):

<http://www.elabscience.com/Manual/Antibody/EN/ENT2365.pdf>,

<http://cloud-clone.com/products/PAB282Hu01.html>,

<http://www.genetex.com/Integrin-alpha-5-antibody-C-term-GTX81964.html>;

Monoclonal Antibody to Integrin Alpha V (ITGaV):

<http://www.abcam.com/integrin-alpha-5-antibody-epr7854-ab150361.html>,

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/mm/mabt207?lang=en®ion=RU>,

<http://cloud-clone.com/products/MAB282Hu22.html>,

[http://www.antibodies-online.com/abstract/Integrin+alpha+V+\(ITGAV\)+Antibody/](http://www.antibodies-online.com/abstract/Integrin+alpha+V+(ITGAV)+Antibody/)),

так и новые, не известные ранее антитела/фрагменты антител, в том числе антитела (фрагменты антител), модифицированные с целью повышения их аффинности известными способами, которые могут быть получены с использованием известных методов, таких как метод иммунизации (в том числе это могут быть, например, химерные антитела или гуманизированные антитела) или метод получения рекомбинантных антител, построенных с помощью методов генной инженерии.

Диагностический набор включает в себя по меньшей мере одно антитело/фрагмент антитела, специфически связывающееся с интегрином альфа V (например, либо иммобилизованное на подложке, либо в лиофилизированной форме, либо в виде водного раствора), и один или более чем один реагент, полезный для проведения диагностического анализа. Когда антитело против интегрин альфа V мечено ферментом, набор может включать субстраты и кофакторы, требующиеся для данного фермента (например, субстрат-предшественник, который обеспечивает детектируемый хромофор или флуорофор). Кроме того, в набор могут быть включены другие добавки, такие как стабилизаторы, буферы (например, блокирующий буфер или буфер для лизиса) и т.п. В определенных воплощениях антитело против интегрин альфа V, включенное в диагностический набор, иммобилизовано на твердой поверхности или твердая поверхность (например, предметное стекло или пластиковая плашка, или диагностическая полоска и др.), на которой можно иммобилизовать антитело, включена в набор. Относительные количества разных реагентов могут широко варьировать для обеспечения концентраций реагентов в растворе, которые существенно оптимизируют чувствительность анализа. В конкретном воплощении антитело и один или более чем один реагент могут быть предоставлены (по отдельности или совместно) в виде сухих порошков, обычно лиофилизированных, включающих эксципиенты, которые при растворении будут давать раствор реагента, имеющий подходящую концентрацию.

В некоторых вариантах набор для диагностики РПЖ может представлять собой тест-систему произвольной конструкции, например диагностические полоски, массив, чип и пр. или набор реагентов, предназначенный для использования при ручном или автоматизированном анализе, или с частично/полностью автоматическим/роботизированным анализатором; набор реагентов также может включать приспособление, например плашку, с иммобилизованными антителами, позволяющую провести твердофазный ИФА или любой другой анализ с чувствительностью не менее 0.2 нг /мл.

В некоторых вариантах изобретения при осуществлении способа диагностики РПЖ дополнительно проводят любые известные из уровня техники клинические, лабораторные и/или инструментальные методы обследования.

Оригинальный биомаркер интегрин альфа V детектируется в цельной или любой фракции мочи пациента, включая экзосомы, но не ограничиваясь ими.

В некоторых вариантах воплощения изобретения биомаркер интегрин альфа V может быть использован в диагностике РПЖ в комбинации с любыми другими биомаркерами, повышающими качество (достоверность, точность и/или др.) диагностики РПЖ. К таким биомаркерам относятся, но не ограничиваются ими, такие как, например, простатспецифический антиген, PCA3, TMPRSS2:ERG, PSCA (prostate

stem cell antigen), AMCAR и/или др.

Примеры воплощения изобретения

Диагностика РПЖ по изобретению может быть проведена любым методом анализа, способным определить содержание интегрин альфа V в моче пациента в диапазоне от 0 до 100 нг/мл. В конкретном случае диагностика осуществлялась следующим образом.

У обследуемого брали 30 мл (можно до 50) первой порции утренней мочи.

Для проведения измерения уровня интегрин альфа V в моче использовали следующие процедуры: образец мочи осветляли центрифугированием 15 мин при скорости 2000 об/мин (можно использовать фильтрацию через мембраны с размером пор 0.22-0.45 нм или любой другой доступный метод, позволяющий отделить растворимую фракцию белков мочи от нерастворимого осадка);

содержание интегрин альфа V определяли в конкретном случае методом ИФА, используя коммерчески доступный "SEB282Hu 96 Tests. Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Integrin Alpha V (IT-GaV)" фирмы Cloud-Clone Corp. (<http://cloud-clone.com/products/SEB282Hu.html>), строго следуя инструкции ([http://cloud-clone.com/manual/ELISA-Kit-for-Integrin-Alpha-V-\(ITGaV\)-SEB282Hu.pdf](http://cloud-clone.com/manual/ELISA-Kit-for-Integrin-Alpha-V-(ITGaV)-SEB282Hu.pdf)).

Для этого:

25 мкл мочи вносили в лунку 96-луночной плашки с иммобилизованными антителами;

инкубировали 1.5 ч при 37°C;

жидкость удаляли и добавляли 100 мкл детектирующего реагента А;

инкубировали 1.5 ч при 37°C;

жидкость удаляли, и лунка промывалась 3 раза промывающим раствором. После каждого промывания жидкость тщательно удалялась вытряхиванием на фильтровальную бумагу;

добавляли 100 мкл детектирующего реагента В;

плашка инкубировалась 0.5 ч при 37°C;

жидкость удалялась, и лунка промывалась 5 раз промывающим раствором. После каждого промывания жидкость тщательно удалялась вытряхиванием на фильтровальную бумагу;

добавляли 90 мкл субстрата ТМБ;

инкубировали 20 мин при 37°C;

добавляли 50 мкл стоп-реагента;

результат измерялся немедленно фотометрически при 450 нм. Для определения уровня ITGAV в каждом экспериментальном образце мочи согласно инструкции производителя использовали калибровочную кривую, полученную в результате измерения различных разведений чистого (гомогенного) белка.

При этом повышение точности анализа и воспроизводимости результатов возможно двумя путями:

за счет контроля процесса сбора мочи: нужно именно 30-50 мл первой порции утренней мочи;

собирая 30-50 мл первой порции мочи после массажа простаты.

Моча может храниться при 4°C в течение суток и 2-3 недели - при -18°C.

В некоторых случаях также бывает целесообразным повторное проведение анализа. Изобретение также может быть использовано для контроля эффективности лечения РПЖ путем проведения повторных анализов с целью выявления уровня интегрин альфа V в цельной моче пациента в процессе, а также после завершения лечения.

На фиг. 1 показаны экспериментальные результаты измерений уровня интегрин альфа V в утренней моче здоровых людей, пациентов с доброкачественными образованиями и больных с РПЖ, полученные по вышеописанной методике.

На графике фиг. 2 показаны кривые вероятности распределения значений для трех наборов данных и математические ожидания соответствующих измерений (вертикальные линии). Как следует из графика, математические ожидания уровня биомаркера у здоровых людей и пациентов с доброкачественными образованиями (между 24 и 32 нг/мл) существенно отличаются от математического ожидания уровня биомаркера у больных с РПЖ (~4 нг/мл). Обработка была проведена в предположении гауссова распределения исходных данных.

Как следует из полученных данных, уровень интегрин альфа V в моче выше 20 нг/мл свидетельствует об отсутствии РПЖ (100%), при этом пациент может быть здоров или иметь гиперплазию простаты (простатит/аденому). Уровень интегрин альфа V 20 нг/мл и менее требует дополнительного анализа, например, посредством взятия пункции и гистологического анализа.

Приведенные данные свидетельствуют, что интегрин альфа V может быть использован в качестве нового биомаркера для диагностики РПЖ, а его определение в моче может быть использовано для проведения неинвазивной диагностики РПЖ, а также для разработки на его основе простого, чувствительно-го, надежного, применимого в условиях стандартной клинической лаборатории клинических или поликлинических медицинских учреждений способа диагностики РПЖ. Предлагаемый способ диагностики может быть использован для обследования населения, мониторинга групп риска, мониторинга рецидивов, мониторинга хода болезни, мониторинга терапии.

Несмотря на то, что изобретение описано со ссылкой на раскрываемые варианты воплощения, для

специалистов в данной области должно быть очевидно, что конкретные подробно описанные эксперименты приведены лишь в целях иллюстрирования настоящего изобретения, и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения. Должно быть понятно, что возможно осуществление различных модификаций без отступления от сути настоящего изобретения.

Перечень последовательностей

<110> Общество с ограниченной ответственностью «Простагност»
 <120> Белковый маркер для диагностики рака предстательной железы, метод измерения и алгоритм интерпретации результата
 <130> 416132
 <150> PCT/RU2017/000386
 <151> 2017-06-02
 <160> 1
 <210> 1
 <211> 1018
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 Phe Asn Leu Asp Val Asp Ser Pro Ala Glu Tyr Ser Gly Pro Glu Gly
 1 5 10 15
 Ser Tyr Phe Gly Phe Ala Val Asp Phe Phe Val Pro Ser Ala Ser Ser
 20 25 30
 Arg Met Phe Leu Leu Val Gly Ala Pro Lys Ala Asn Thr Thr Gln Pro
 35 40 45
 Gly Ile Val Glu Gly Gly Gln Val Leu Lys Cys Asp Trp Ser Ser Thr
 50 55 60
 Arg Arg Cys Gln Pro Ile Glu Phe Asp Ala Thr Gly Asn Arg Asp Tyr
 65 70 75 80
 Ala Lys Asp Asp Pro Leu Glu Phe Lys Ser His Gln Trp Phe Gly Ala
 85 90 95
 Ser Val Arg Ser Lys Gln Asp Lys Ile Leu Ala Cys Ala Pro Leu Tyr
 100 105 110
 His Trp Arg Thr Glu Met Lys Gln Glu Arg Glu Pro Val Gly Thr Cys
 115 120 125
 Phe Leu Gln Asp Gly Thr Lys Thr Val Glu Tyr Ala Pro Cys Arg Ser
 130 135 140
 Gln Asp Ile Asp Ala Asp Gly Gln Gly Phe Cys Gln Gly Gly Phe Ser
 145 150 155 160
 Ile Asp Phe Thr Lys Ala Asp Arg Val Leu Leu Gly Gly Pro Gly Ser
 165 170 175
 Phe Tyr Trp Gln Gly Gln Leu Ile Ser Asp Gln Val Ala Glu Ile Val
 180 185 190
 Ser Lys Tyr Asp Pro Asn Val Tyr Ser Ile Lys Tyr Asn Asn Gln Leu

045060

195 200 205
Ala Thr Arg Thr Ala Gln Ala Ile Phe Asp Asp Ser Tyr Leu Gly Tyr
210 215 220
Ser Val Ala Val Gly Asp Phe Asn Gly Asp Gly Ile Asp Asp Phe Val
225 230 235 240
Ser Gly Val Pro Arg Ala Ala Arg Thr Leu Gly Met Val Tyr Ile Tyr
245 250 255
Asp Gly Lys Asn Met Ser Ser Leu Tyr Asn Phe Thr Gly Glu Gln Met
260 265 270
Ala Ala Tyr Phe Gly Phe Ser Val Ala Ala Thr Asp Ile Asn Gly Asp
275 280 285
Asp Tyr Ala Asp Val Phe Ile Gly Ala Pro Leu Phe Met Asp Arg Gly
290 295 300
Ser Asp Gly Lys Leu Gln Glu Val Gly Gln Val Ser Val Ser Leu Gln
305 310 315 320
Arg Ala Ser Gly Asp Phe Gln Thr Thr Lys Leu Asn Gly Phe Glu Val
325 330 335
Phe Ala Arg Phe Gly Ser Ala Ile Ala Pro Leu Gly Asp Leu Asp Gln
340 345 350
Asp Gly Phe Asn Asp Ile Ala Ile Ala Ala Pro Tyr Gly Gly Glu Asp
355 360 365
Lys Lys Gly Ile Val Tyr Ile Phe Asn Gly Arg Ser Thr Gly Leu Asn
370 375 380
Ala Val Pro Ser Gln Ile Leu Glu Gly Gln Trp Ala Ala Arg Ser Met
385 390 395 400
Pro Pro Ser Phe Gly Tyr Ser Met Lys Gly Ala Thr Asp Ile Asp Lys
405 410 415
Asn Gly Tyr Pro Asp Leu Ile Val Gly Ala Phe Gly Val Asp Arg Ala
420 425 430
Ile Leu Tyr Arg Ala Arg Pro Val Ile Thr Val Asn Ala Gly Leu Glu
435 440 445
Val Tyr Pro Ser Ile Leu Asn Gln Asp Asn Lys Thr Cys Ser Leu Pro
450 455 460
Gly Thr Ala Leu Lys Val Ser Cys Phe Asn Val Arg Phe Cys Leu Lys
465 470 475 480
Ala Asp Gly Lys Gly Val Leu Pro Arg Lys Leu Asn Phe Gln Val Glu
485 490 495
Leu Leu Leu Asp Lys Leu Lys Gln Lys Gly Ala Ile Arg Arg Ala Leu

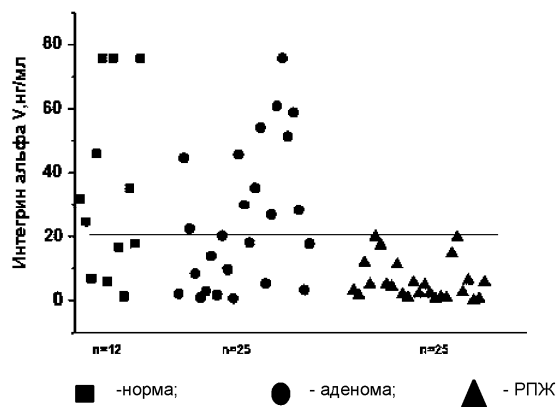
045060

500 505 510
 Phe Leu Tyr Ser Arg Ser Pro Ser His Ser Lys Asn Met Thr Ile Ser
 515 520 525
 Arg Gly Gly Leu Met Gln Cys Glu Glu Leu Ile Ala Tyr Leu Arg Asp
 530 535 540
 Glu Ser Glu Phe Arg Asp Lys Leu Thr Pro Ile Thr Ile Phe Met Glu
 545 550 555 560
 Tyr Arg Leu Asp Tyr Arg Thr Ala Ala Asp Thr Thr Gly Leu Gln Pro
 565 570 575
 Ile Leu Asn Gln Phe Thr Pro Ala Asn Ile Ser Arg Gln Ala His Ile
 580 585 590
 Leu Leu Asp Cys Gly Glu Asp Asn Val Cys Lys Pro Lys Leu Glu Val
 595 600 605
 Ser Val Asp Ser Asp Gln Lys Lys Ile Tyr Ile Gly Asp Asp Asn Pro
 610 615 620
 Leu Thr Leu Ile Val Lys Ala Gln Asn Gln Gly Glu Gly Ala Tyr Glu
 625 630 635 640
 Ala Glu Leu Ile Val Ser Ile Pro Leu Gln Ala Asp Phe Ile Gly Val
 645 650 655
 Val Arg Asn Asn Glu Ala Leu Ala Arg Leu Ser Cys Ala Phe Lys Thr
 660 665 670
 Glu Asn Gln Thr Arg Gln Val Val Cys Asp Leu Gly Asn Pro Met Lys
 675 680 685
 Ala Gly Thr Gln Leu Leu Ala Gly Leu Arg Phe Ser Val His Gln Gln
 690 695 700
 Ser Glu Met Asp Thr Ser Val Lys Phe Asp Leu Gln Ile Gln Ser Ser
 705 710 715 720
 Asn Leu Phe Asp Lys Val Ser Pro Val Val Ser His Lys Val Asp Leu
 725 730 735
 Ala Val Leu Ala Ala Val Glu Ile Arg Gly Val Ser Ser Pro Asp His
 740 745 750
 Val Phe Leu Pro Ile Pro Asn Trp Glu His Lys Glu Asn Pro Glu Thr
 755 760 765
 Glu Glu Asp Val Gly Pro Val Val Gln His Ile Tyr Glu Leu Arg Asn
 770 775 780
 Asn Gly Pro Ser Ser Phe Ser Lys Ala Met Leu His Leu Gln Trp Pro
 785 790 795 800
 Tyr Lys Tyr Asn Asn Asn Thr Leu Leu Tyr Ile Leu His Tyr Asp Ile

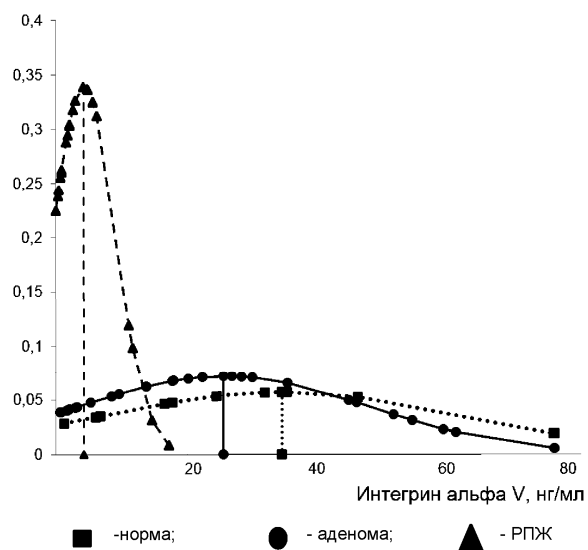
805 810 815
 Asp Gly Pro Met Asn Cys Thr Ser Asp Met Glu Ile Asn Pro Leu Arg
 820 825 830
 Ile Lys Ile Ser Ser Leu Gln Thr Thr Glu Lys Asn Asp Thr Val Ala
 835 840 845
 Gly Gln Gly Glu Arg Asp His Leu Ile Thr Lys Arg Asp Leu Ala Leu
 850 855 860
 Ser Glu Gly Asp Ile His Thr Leu Gly Cys Gly Val Ala Gln Cys Leu
 865 870 875 880
 Lys Ile Val Cys Gln Val Gly Arg Leu Asp Arg Gly Lys Ser Ala Ile
 885 890 895
 Leu Tyr Val Lys Ser Leu Leu Trp Thr Glu Thr Phe Met Asn Lys Glu
 900 905 910
 Asn Gln Asn His Ser Tyr Ser Leu Lys Ser Ser Ala Ser Phe Asn Val
 915 920 925
 Ile Glu Phe Pro Tyr Lys Asn Leu Pro Ile Glu Asp Ile Thr Asn Ser
 930 935 940
 Thr Leu Val Thr Thr Asn Val Thr Trp Gly Ile Gln Pro Ala Pro Met
 945 950 955 960
 Pro Val Pro Val Trp Val Ile Ile Leu Ala Val Leu Ala Gly Leu Leu
 965 970 975
 Leu Leu Ala Val Leu Val Phe Val Met Tyr Arg Met Gly Phe Phe Lys
 980 985 990
 Arg Val Arg Pro Pro Gln Glu Glu Gln Glu Arg Glu Gln Leu Gln Pro
 995 1000 1005
 His Glu Asn Gly Glu Gly Asn Ser Glu Thr
 1010 1015

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение интегрин альфа V или его фрагмента в качестве маркера, выявляемого в цельной моче, для диагностики рака предстательной железы.
2. Способ диагностики рака предстательной железы, включающий выявление в цельной моче пациента интегрин альфа V или его фрагмента.
3. Способ по п.2, в котором интегрин альфа V или его фрагмент выявляют в моче в виде отдельных субъединиц или в составе гетеродимеров интегринов $\alpha\nu\beta 1$, $\alpha\nu\beta 3$, $\alpha\nu\beta 5$, $\alpha\nu\beta 6$ и/или $\alpha\nu\beta 8$.
4. Способ по любому из пп.2 или 3, в котором диагностируют отсутствие рака предстательной железы при обнаружении интегрин альфа V или его фрагмента в моче в количестве более 20 нг/мл.
5. Способ по п.2, включающий дополнительные клинические, лабораторные и/или инструментальные методы обследования.
6. Способ по п.5, в котором дополнительные клинические, лабораторные и/или инструментальные методы обследования проводят, если количество интегрин альфа V, обнаруженного в моче пациента, составляет не более 20 нг/мл.



Фиг. 1



Фиг. 2

