



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2012102602/10, 25.06.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
26.06.2009 US 61/220,687

(43) Дата публикации заявки: 10.08.2013 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 26.01.2012(86) Заявка РСТ:
US 2010/040028 (25.06.2010)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2010/151792 (29.12.2010)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3, ООО
"Юридическая фирма Городиский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**РИДЖЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(72) Автор(ы):

**ДЭВИС Самьюэл (US),
СМИТ Эрик (US),
МАКДОНАЛД Дуглас (US),
ОЛСОН Кара Луиз (US)**(54) **ЛЕГКОВЫДЕЛЯЕМЫЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА С ПРИРОДНЫМ
ИММУНОГЛОБУЛИНОВЫМ ФОРМАТОМ**

(57) Формула изобретения

1. Гетеродимерный биспецифический антигенсвязывающий белок, содержащий:
 - а. первый полипептид, содержащий от N-конца до С-конца первую область связывания эпитопа, которая селективно связывает первый эпитоп, константную область иммуноглобулина, которая содержит первую область СН3 IgG человека, выбранную из IgG1, IgG2 и IgG4; и
 - б. второй полипептид, содержащий, от N-конца до С-конца, вторую область связывания эпитопа, которая селективно связывает второй эпитоп, константную область иммуноглобулина, которая содержит вторую область СН3 IgG человека, выбранного из IgG1, IgG2 и IgG4, где вторая область СН3 содержит модификацию, которая снижает или предотвращает связывание второго домена СН3 с белком А.
2. Биспецифический белок по п.1, где первый полипептид и второй полипептид представляют собой тяжелые цепи IgG человека.
3. Биспецифический белок по п.1, дополнительно содержащий легкую цепь иммуноглобулина.
4. Биспецифический белок по п.3, где легкая цепь иммуноглобулина представляет собой легкую цепь иммуноглобулина человека.
5. Биспецифический белок по п.1, где первый и второй полипептиды каждый представляют собой тяжелые цепи IgG1 человека.
6. Биспецифический белок по п.1, где модификация выбрана из группы, состоящей

из (a) 95R и (b) 95R и 96F в нумерации экзонов IMGT, или (a') 435R и (b') 435R и 436F в нумерации системы EU.

7. Биспецифический белок по п.6, дополнительно содержащий от одной до пяти модификаций, выбранных из группы, состоящей из 16E, 18M, 44S, 52N, 57M и 82I в системе нумерации экзонов IMGT или 356E, 358M, 384S, 392N, 397M и 422I в системе нумерации EU.

8. Биспецифический белок по п.6, где домен СН3 биспецифического антитела является неиммуногенным или по существу неиммуногенным для человека.

9. Биспецифический белок по п.7, где домен СН3 биспецифического антитела является неиммуногенным или по существу неиммуногенным для человека.

10. Способ получения биспецифического антитела, включающий:

а. получение последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей первую тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую первый вариабельный домен, который распознает первый эпитоп, где первая тяжелая цепь иммуноглобулина содержит константный домен изотипов IgG1, IgG2 или IgG4;

б. получение второй последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей вторую тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую второй вариабельный домен, который распознает второй эпитоп, где вторая тяжелая цепь иммуноглобулина содержит константный домен изотипов IgG1, IgG2 или IgG4, который содержит модификацию в его домене СН3, которая препятствует или снижает связывание с белком А;

с. получение третьей последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей легкую цепь иммуноглобулина, которая образует пару с первой и второй тяжелой цепью иммуноглобулина;

д. введение первой, второй и третьей последовательности нуклеиновой кислоты в клетку млекопитающего;

е. обеспечение возможности клетке экспрессировать биспецифическое антитело; и

ф. выделение биспецифического антитела, основанное на способности биспецифического антитела связываться с белком А.

11. Способ по п.10, где модификация выбрана из группы, состоящей из (a) 95R и (b) 95R и 96F в системе нумерации экзонов IMGT или (a') 435R, и (b') 435R и 436F в системе нумерации EU.

12. Способ по п.11, дополнительно включающий от одной до пяти модификаций, выбранных из группы, состоящей из 16E, 18M, 44S, 52N, 57M, и 82I в системе нумерации экзонов IMGT или 356E, 358M, 384S, 392N, 397M и 422I в системе нумерации EU.

13. Способ по п.11, где домен СН3 биспецифического антитела является неиммуногенным или по существу неиммуногенным для человека.

14. Способ по п.12, где домен СН3 биспецифического антитела является неиммуногенным или по существу неиммуногенным для человека.

15. Способ по п.10, где биспецифическое антитело выделяют на твердом носителе, содержащем белок А.

16. Способ по п.15, где твердый носитель включает колонку для аффинной хроматографии с белком А и биспецифическое антитело выделяют, используя градиент рН.

17. Способ по п.16, где градиент рН представляет собой ступенчатый градиент, включающий один или несколько ступеней рН между значениями рН, равными 3 и 5.

18. Способ выделения биспецифического антитела, включающий выделение из разрушенной клетки или смеси антител биспецифического антитела, обладающего селективно модифицированными доменами СН3 IgG1, IgG2 или IgG4, где селективно модифицированные домены СН3 являются неиммуногенными или по существу неиммуногенными для человека, и где модификации приводят в результате к получению

биспецифического антитела с константной областью гетеродимерной тяжелой цепи, мономер которой обладает различной аффинностью для белка А, и биспецифическое антитело выделяют из разрушенной клетки или смеси, основываясь на его аффинности к белку А.

19. Способ по п.18, где один мономер константной области гетеродимерной тяжелой цепи представляет собой IgG1 человека, а другой мономер константной области гетеродимерной тяжелой цепи представляет собой модифицированный IgG1 человека, содержащий модификацию, выбранную из группы, состоящей из (а) Н95R и (b) Н95R и Y96F по системе нумерации экзонов IMGT или (a') Н435R, и (b') Н435R и Y436F в системе нумерации EU.

20. Способ по п.19, где модифицированный IgG1 человека дополнительно содержит модификацию, выбранную из группы, состоящей из D16E, L18M, N44S, K52N, V57M и V82I в системе нумерации экзонов IMGT или D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I в системе нумерации EU.

RU 2012102102 A

RU 2012102602 A