

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2006.10.20**

(30) Prioridade(s): **2005.10.21 US 728947 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2008.07.23**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.12.07**
078/2012

(73) Titular(es):

GENZYME CORPORATION
500 KENDALL STREET CAMBRIDGE, MA 02142
US

(72) Inventor(es):

JOHN M. MCPHERSON **US**
TIM EDMUNDS **US**
QUN ZHOU **US**

(74) Mandatário:

LUÍSA MARIA FERREIRA GUERREIRO
PRACETA FERNANDO NAMORA, Nº 7, 3º ESQ. 2820-598
CHARNECA DA CAPARICA **PT**

(54) Epígrafe: **TERAPÊUTICAS À BASE DE ANTICORPOS COM ATIVIDADE ADCC REFORÇADA**

(57) Resumo:

SÃO DIVULGADOS MÉTODOS PARA A PRODUÇÃO DE TERAPÊUTICAS À BASE DE ANTICORPOS COM ATIVIDADE ADCC REFORÇADA. A ATIVIDADE ADCC REFORÇADA É ATRIBUÍDA A OLIGOMANNOSE DO TIPO N-/GLICANOS SOBRE OS ANTICORPOS E PROTEÍNAS DE FUSÃO FC DA INVENÇÃO. TAMBÉM DIVULGADOS SÃO MÉTODOS DE UTILIZAÇÃO DE TAIS TERAPÊUTICAS BASEADAS EM ANTICORPOS PARA MATAR CÉLULAS ALVO NUM MAMÍFERO, INCLUINDO OS MÉTODOS TERAPÊUTICOS DE TRATAMENTO DE CANCRO, DOENÇAS AUTOIMUNES E OUTRAS DOENÇAS.

RESUMO

TERAPÊUTICAS À BASE DE ANTICORPOS COM ATIVIDADE ADCC REFORÇADA

São divulgados métodos para a produção de terapêuticas à base de anticorpos com atividade ADCC reforçada. A atividade ADCC reforçada é atribuída a oligomannose do tipo N/-glicanos sobre os anticorpos e proteínas de fusão Fc da invenção. Também divulgados são métodos de utilização de tais terapêuticas baseadas em anticorpos para matar células alvo num mamífero, incluindo os métodos terapêuticos de tratamento de cancro, doenças autoimunes e outras doenças.

DESCRIÇÃO

TERAPÊUTICAS À BASE DE ANTICORPOS COM ATIVIDADE ADCC
REFORÇADA

REIVINDICAÇÕES

1. Método de produzir um anticorpo monoclonal glicosilado ou proteína de fusão Fc tendo pelo menos 70% Man₅₋₉ (GlcNAc)₂ *N-glicanos*, e 10% ou menos de complexo *N-glicanos*, por razão molar, em relação a todos os *N-glicanos*, compreendendo:
 - (a) proporcionar um anticorpo monoclonal produtor de células de mamífero ou uma proteína de fusão Fc produtora de células de mamíferos;
 - (b) cultivar a célula na presença de kifunensine; e
 - (c) recuperar o anticorpo glicosilado ou a proteína de fusão Fc.
2. Método da reivindicação 1, em que a kifunensine é utilizada numa concentração de 0,01 a 100 µg/ml para um período de pelo menos 12 horas.
3. Método da reivindicação 1, em que a kifunensine é utilizada numa concentração de 0,01 a 50 µg/ml durante um período de pelo menos 12 horas.
4. Método da reivindicação 1, em que a kifunensine é utilizada numa concentração de 0,01 a 20 µg/ml durante um período de pelo menos 12 horas.
5. Método da reivindicação 1, em que a kifunensine é usada numa concentração de 0,1 a 10 µg/ml para um período de pelo menos 12 horas.
6. Método da reivindicação 1, em que os ovários de hamster chinês CHO ou células de hibridoma são incubadas com 0,5 a 10 µg/ml de kifunensine ao longo de 10 dias.

7. Método da reivindicação 1, em que o anticorpo monoclonal ou proteína de fusão Fc tem, pelo menos, 90% de $\text{Man}_{5-9}(\text{GlcNAc})_2$ *N-glicanos*.
8. Método da reivindicação 1, em que o anticorpo monoclonal ou proteína de fusão Fc tem menos de 30% de $\text{Man}_5(\text{GlcNAc})_2$ e/ou $\text{Man}_6(\text{GlcNAc})_2$ *N-glicanos* por razão molar, em relação a todos os *N-glicanos*.
9. Método da reivindicação 1, em que o anticorpo monoclonal ou proteína de fusão Fc tem menos de 30% de *N-glicanos* fucosilados por razão molar, em relação a todos os *N-glicanos*.
10. Método de qualquer uma das reivindicações 1-9, em que as células são células de ovário de hamster chinês CHO, células de hibridoma de rato, células de mieloma, células humanas embrionárias de rim, células de rim de macaco, células epiteliais de carcinoma humano, células de fibrossarcoma humano, ou células de rim de hamster bebé.
11. Método da reivindicação 10, em que as células são células CHO.

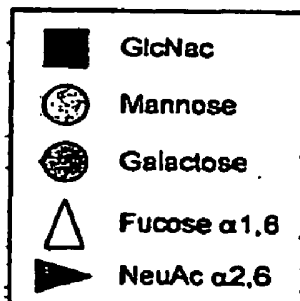
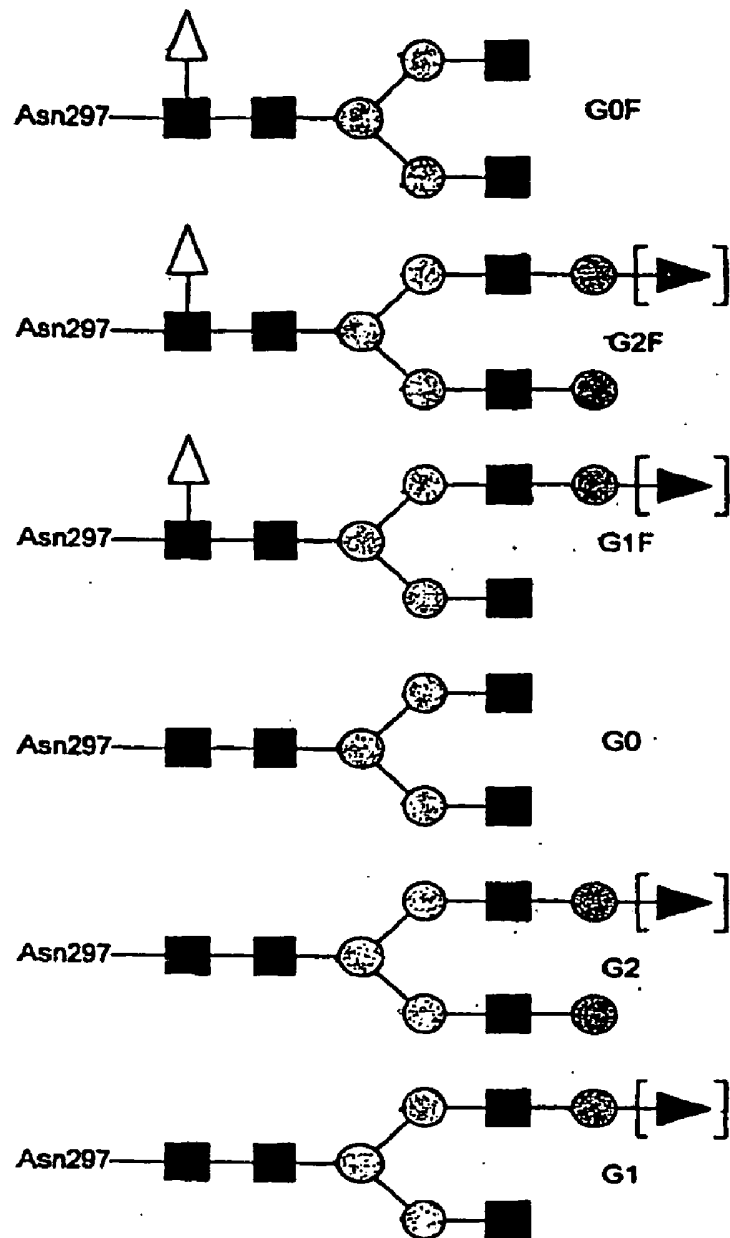


Figura 1A

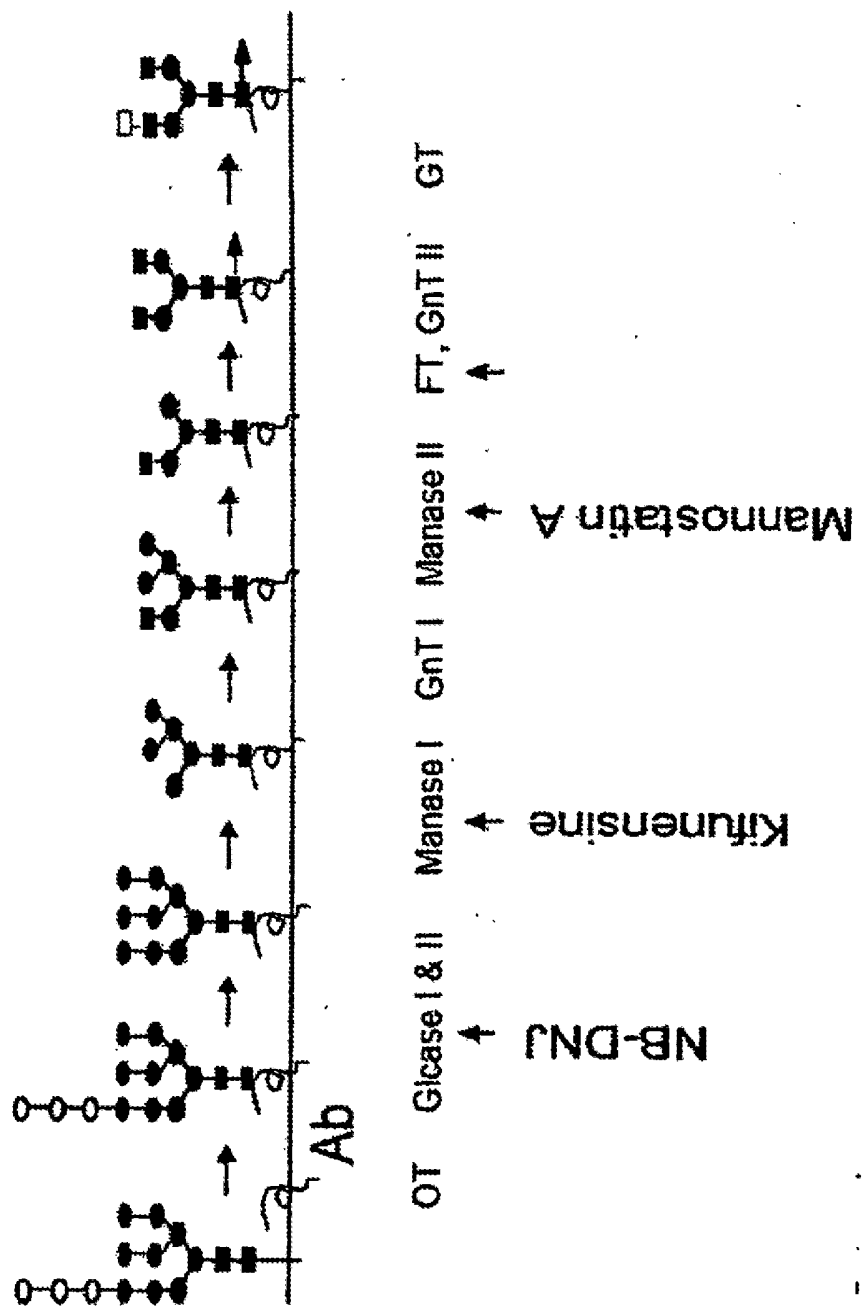


Figura 1B

	230	240	250	260	270
hIgG1	PAP	ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI	SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV		
hIgG2	PAP	-FVAGPSVFLFPPKPKDTLMI	SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV		
hIgG3	PAP	ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI	SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYV		
hIgG4	PAPE	FLGGPSVFLFPPKPKDTLMI	SRTPEVTCVVVDVSEQEDPEVQFNWYV		
		****		*	* *
	280	280	300	310	320
hIgG1	DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP				
hIgG2	DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS	SVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP			
hIgG3	DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS	SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP			
hIgG4	DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP				
	330	340	350	360	370
hIgG1	APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV				
			D L		
hIgG2	APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV				
hIgG3	APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV				
hIgG4	SSI	EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV			
	**	*		*	
	380	390	400	410	420
hIgG1	EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC	SVMH			
hIgG2	EWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC	SVMH			
hIgG3	EWESNGQPENNYNTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIF	SVMH			
hIgG4	EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFC	SVMH			
	*	*	*	*	*
	430	440			
hIgG1	EALHNHYTQKSLSLSPGK				
hIgG2	EALHNHYTQKSLSLSPGK				
hIgG3	EALHNRFTQKSLSLSPGK				
hIgG4	EALHNHYTQKSLSLSLGGK				
	**	*			

Figura 1C

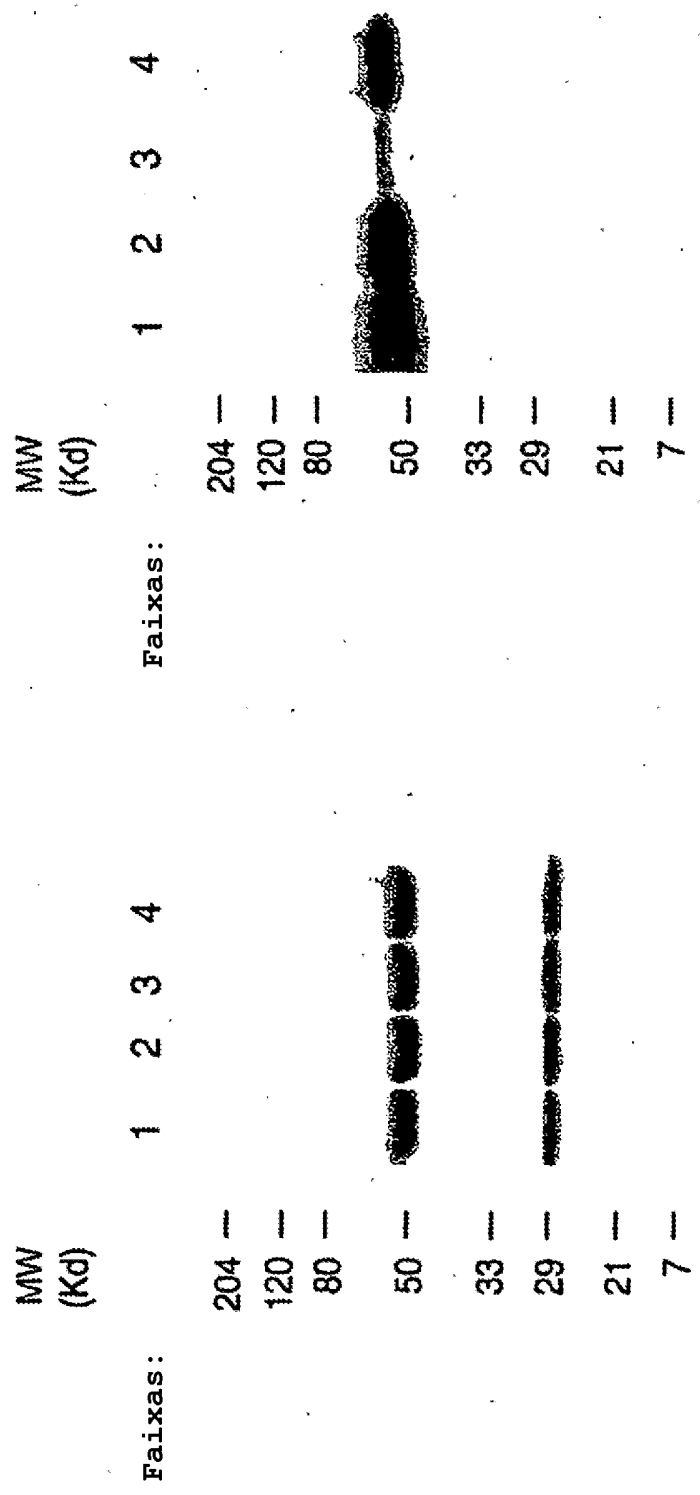


Figura 2A

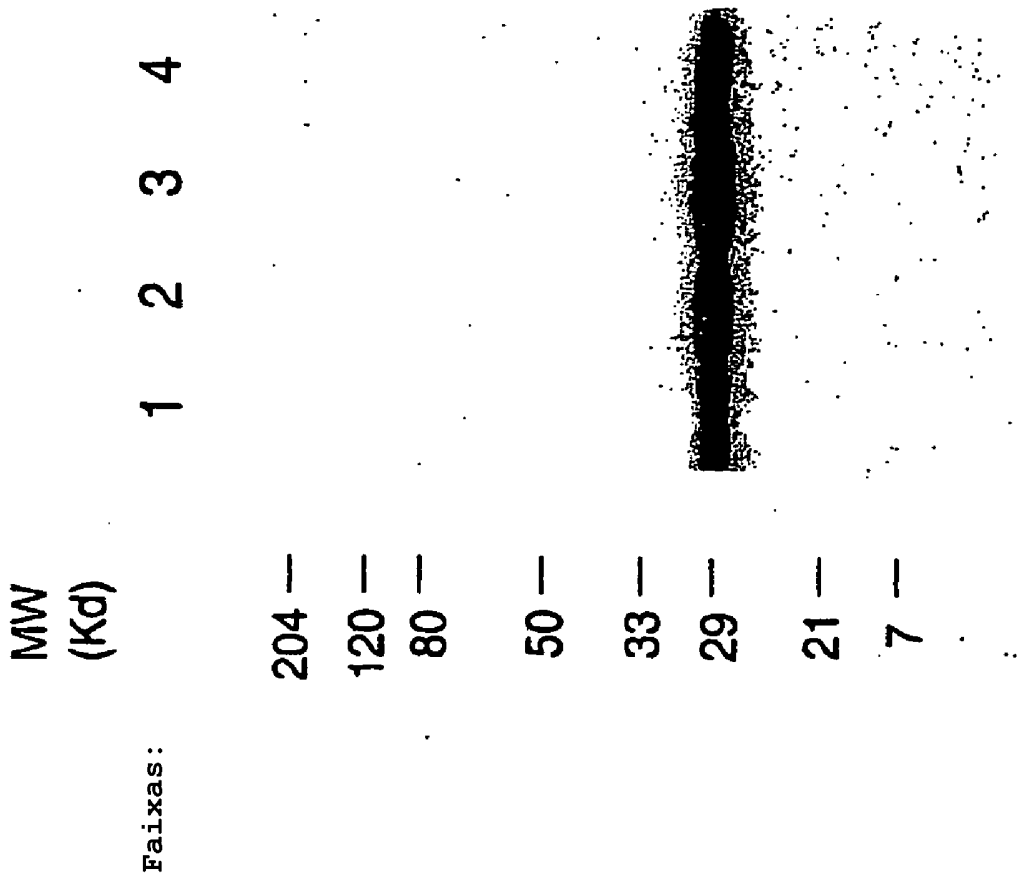


Figura 2C

Figura 3A

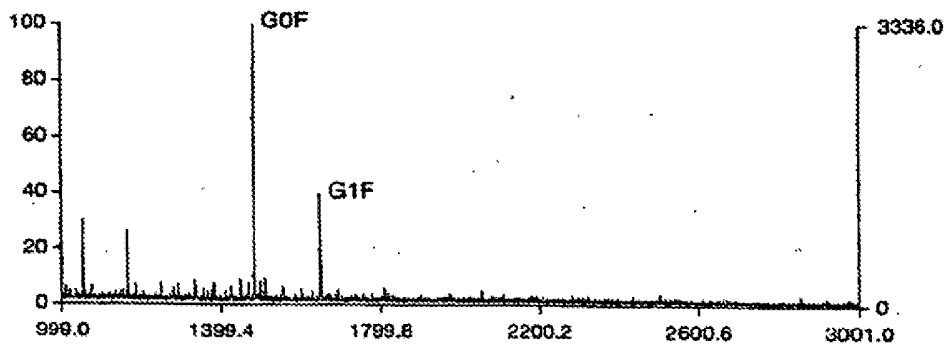


Figura 3B

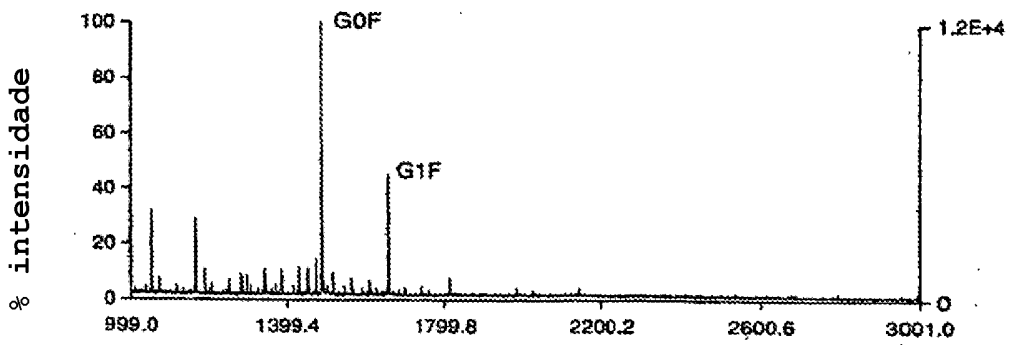
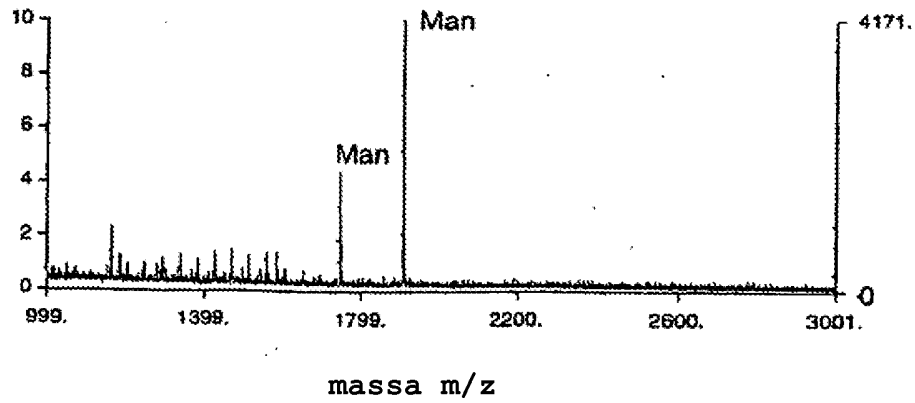


Figura 3C



massa m/z

Figura 3D

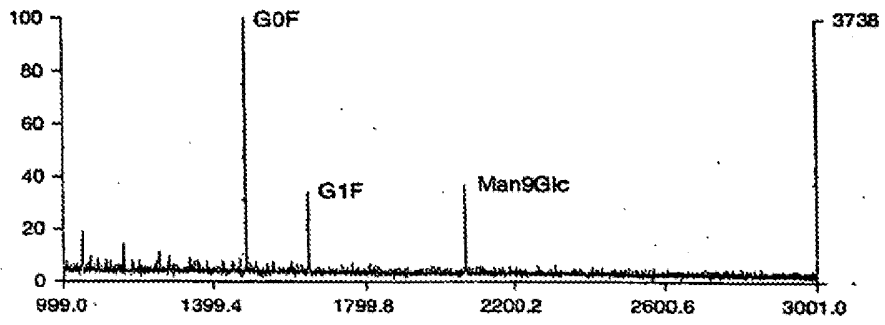


Figura 3E

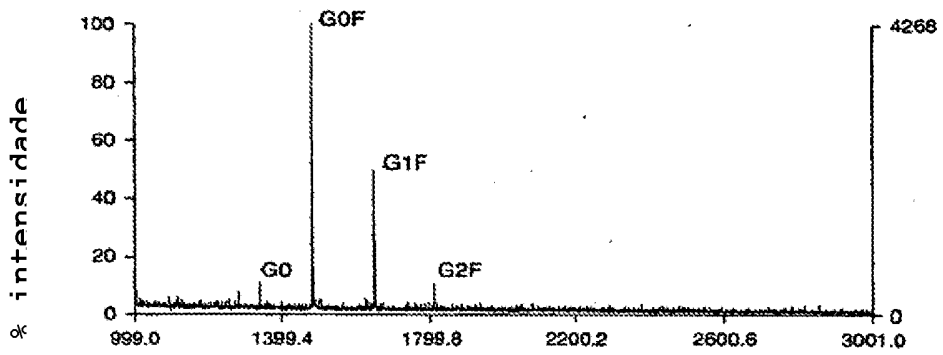
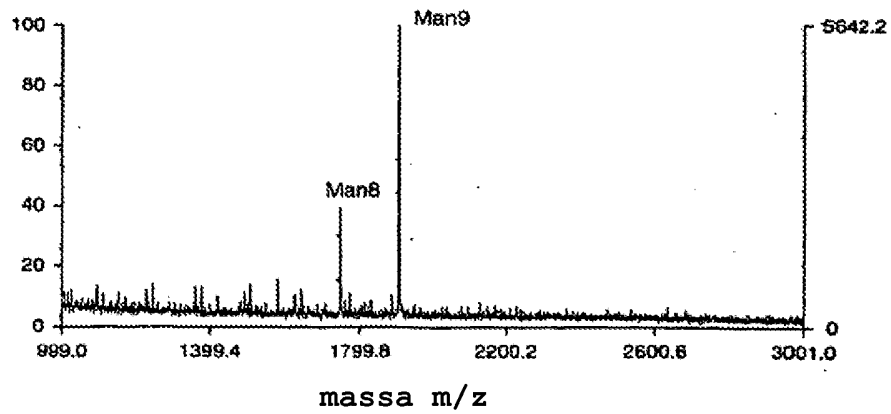


Figura 3F



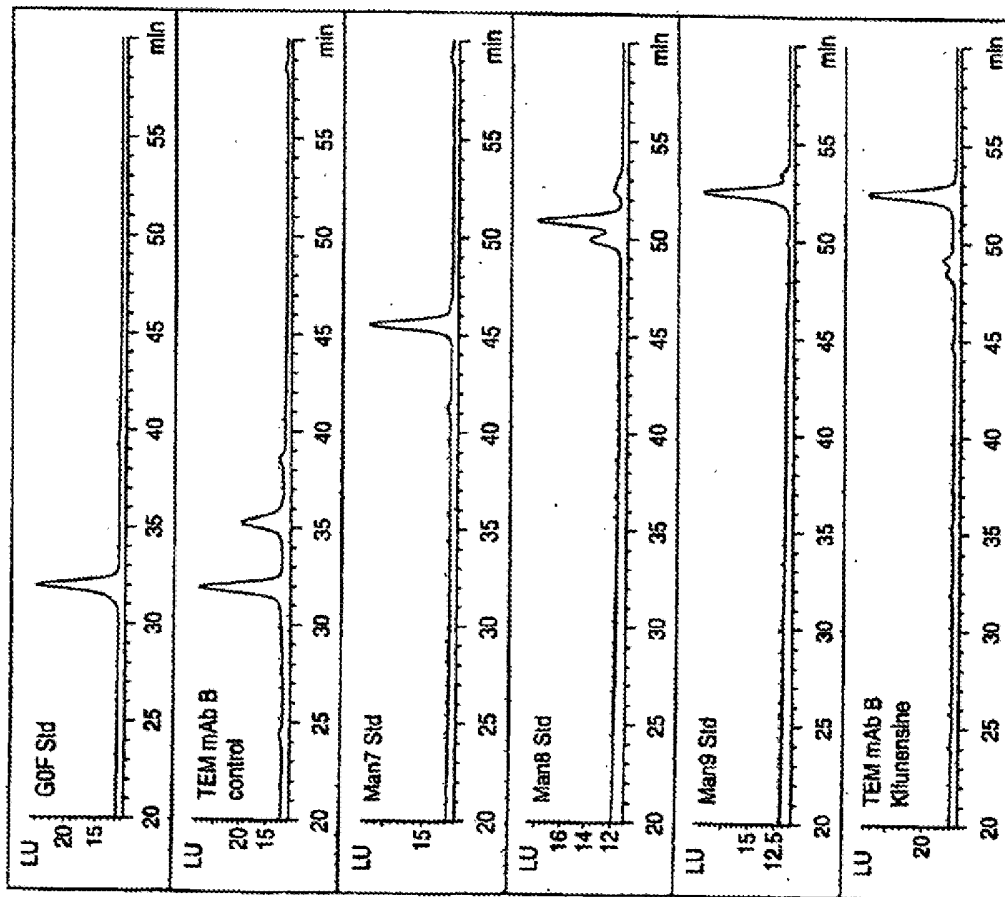


Figura 4A

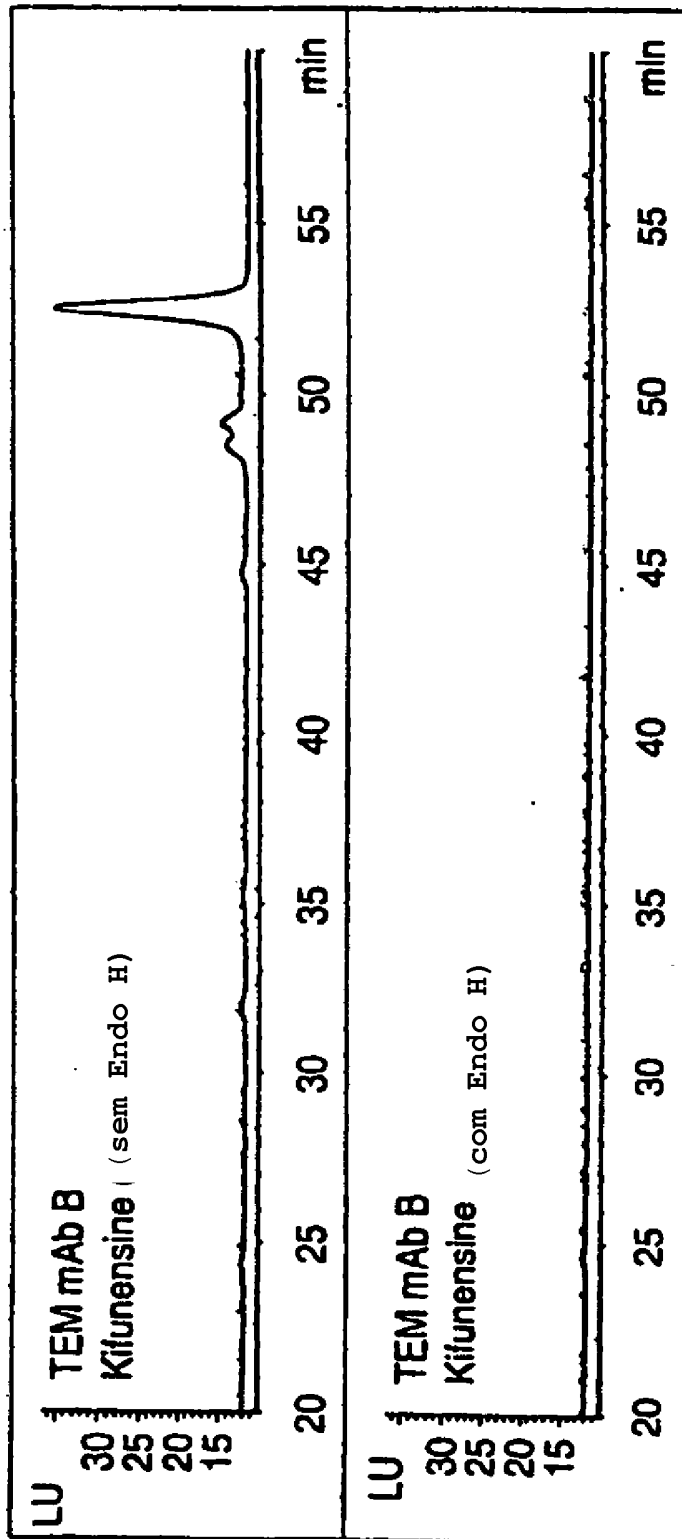


Figura 4B

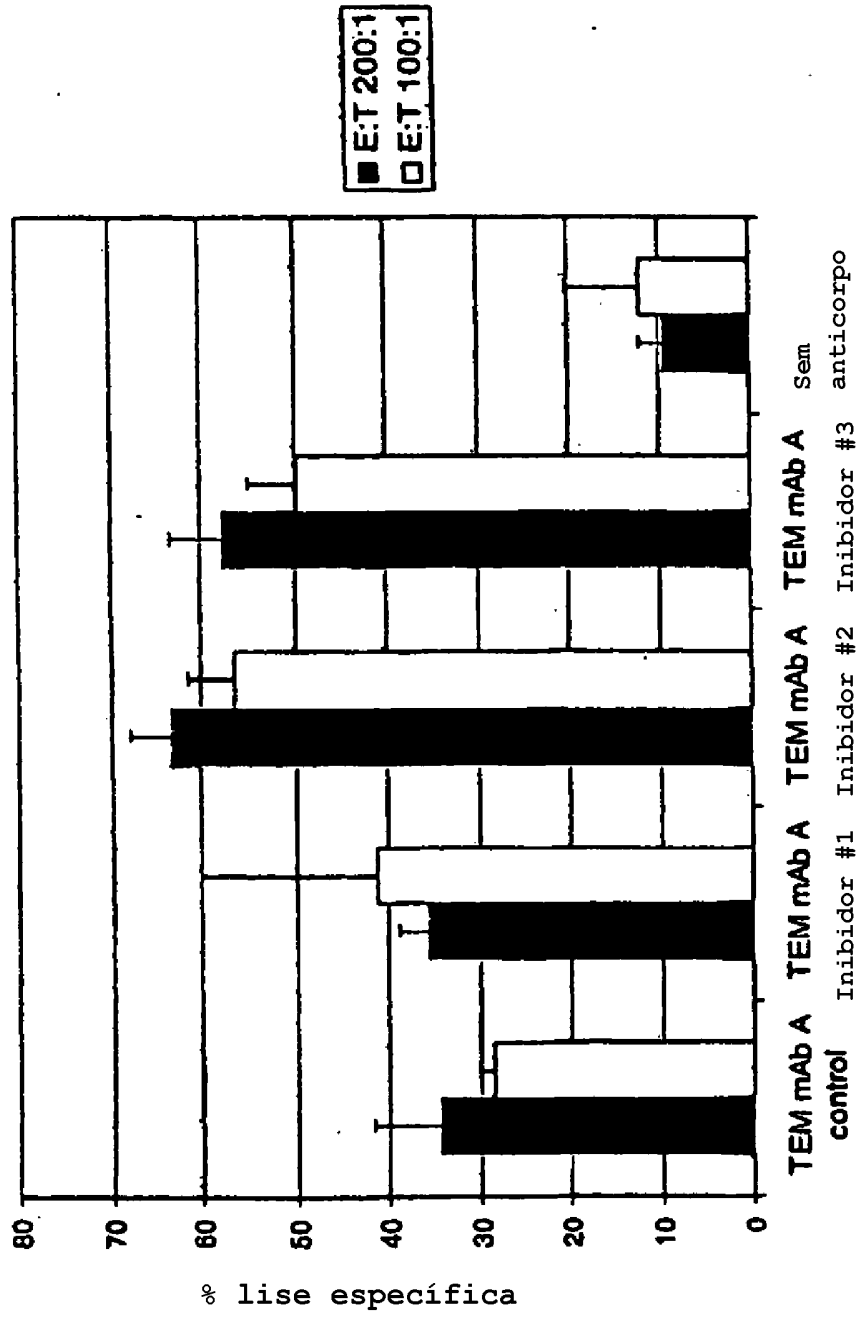


Figura 5A

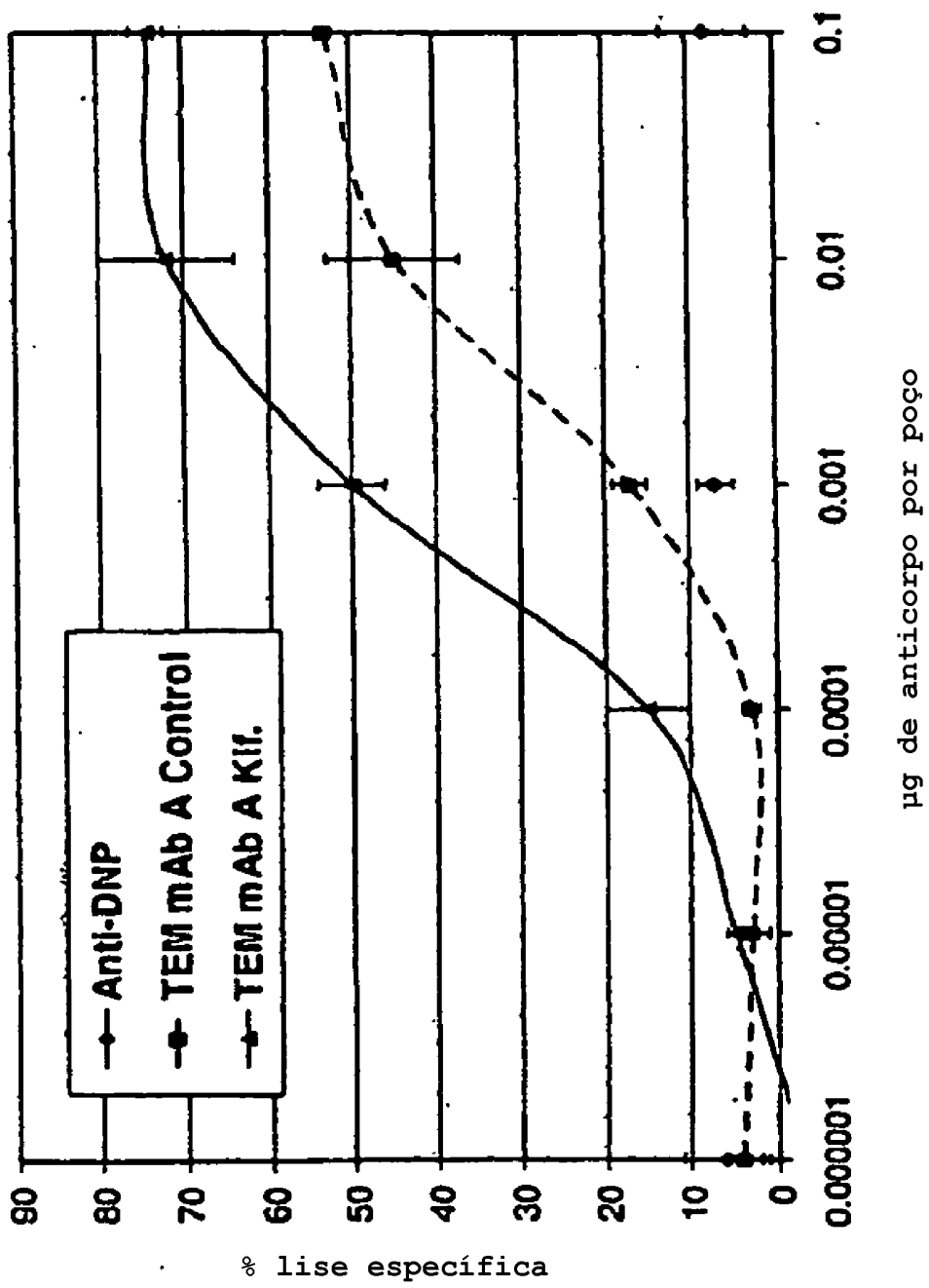


Figura 5B

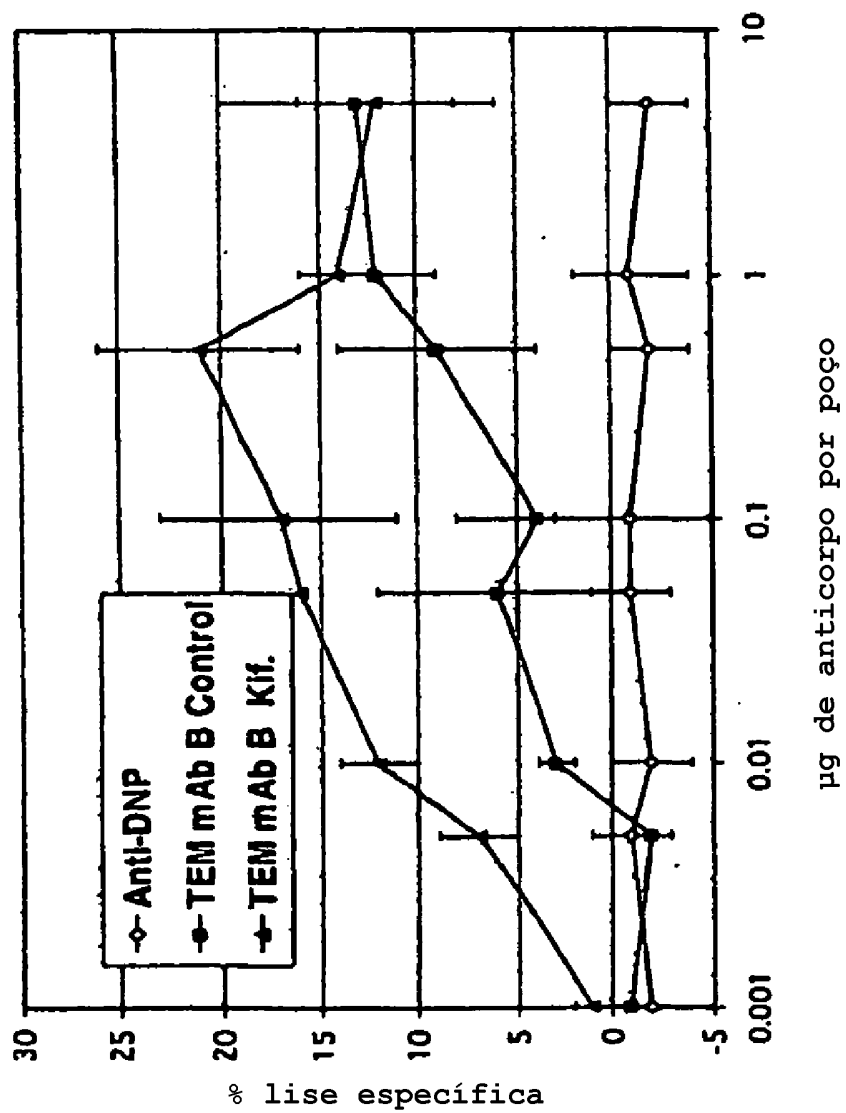


Figura 5C

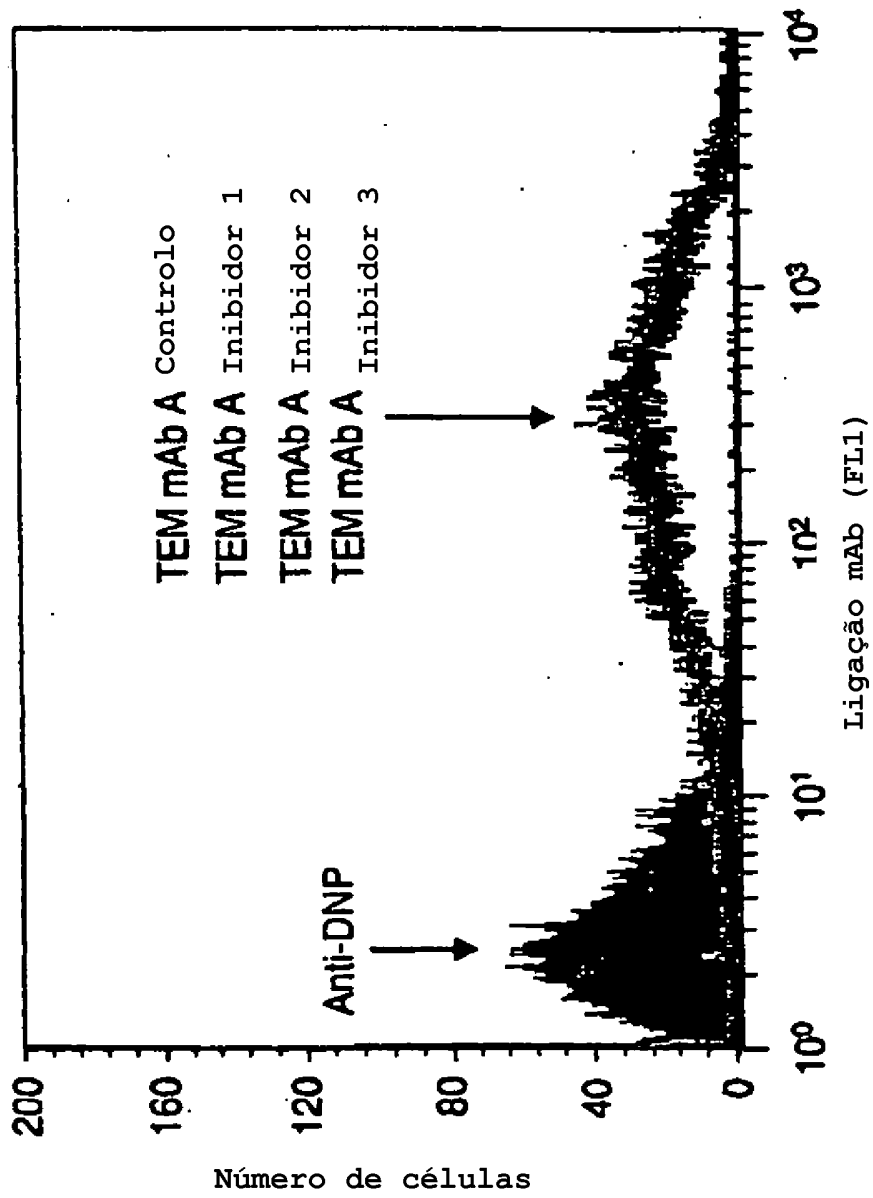


Figura 6A

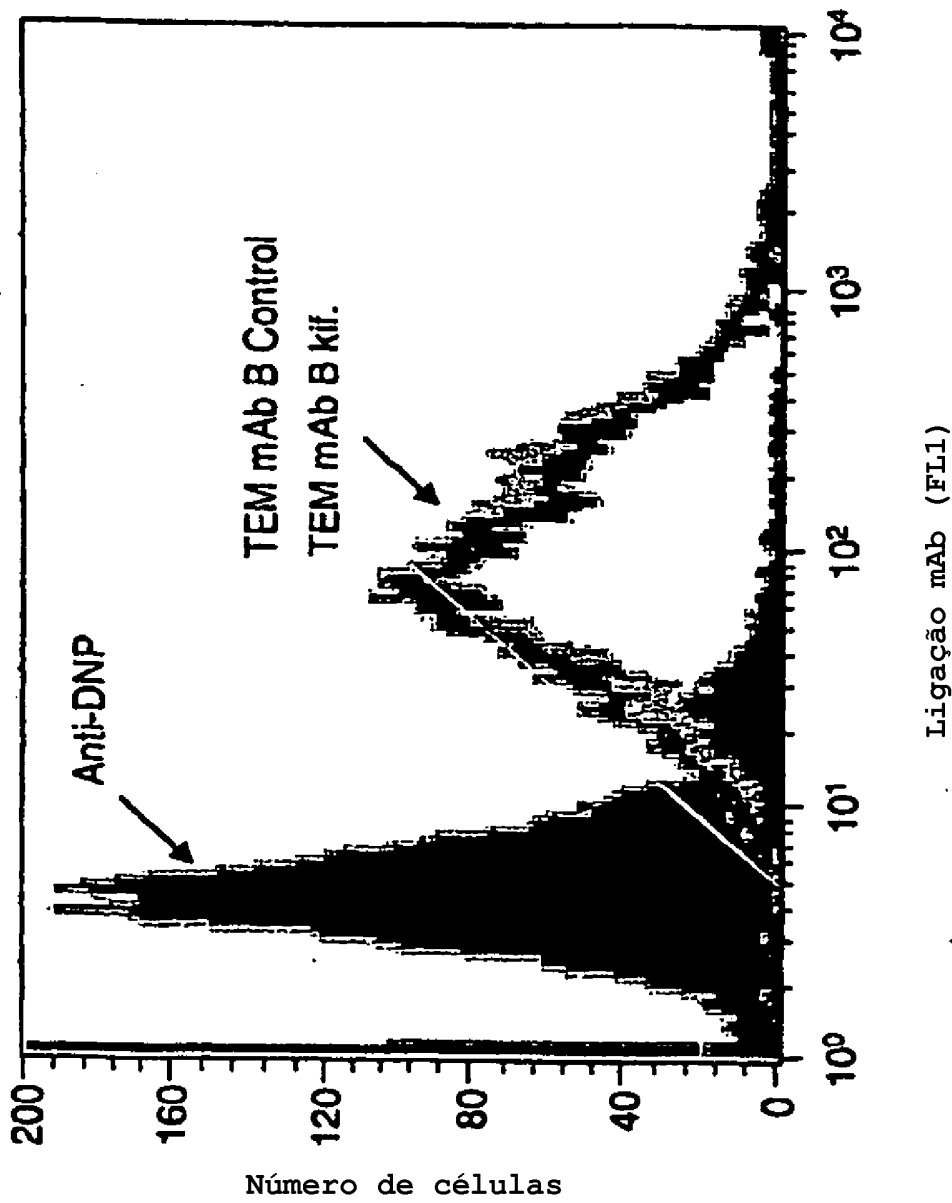


Figura 6B

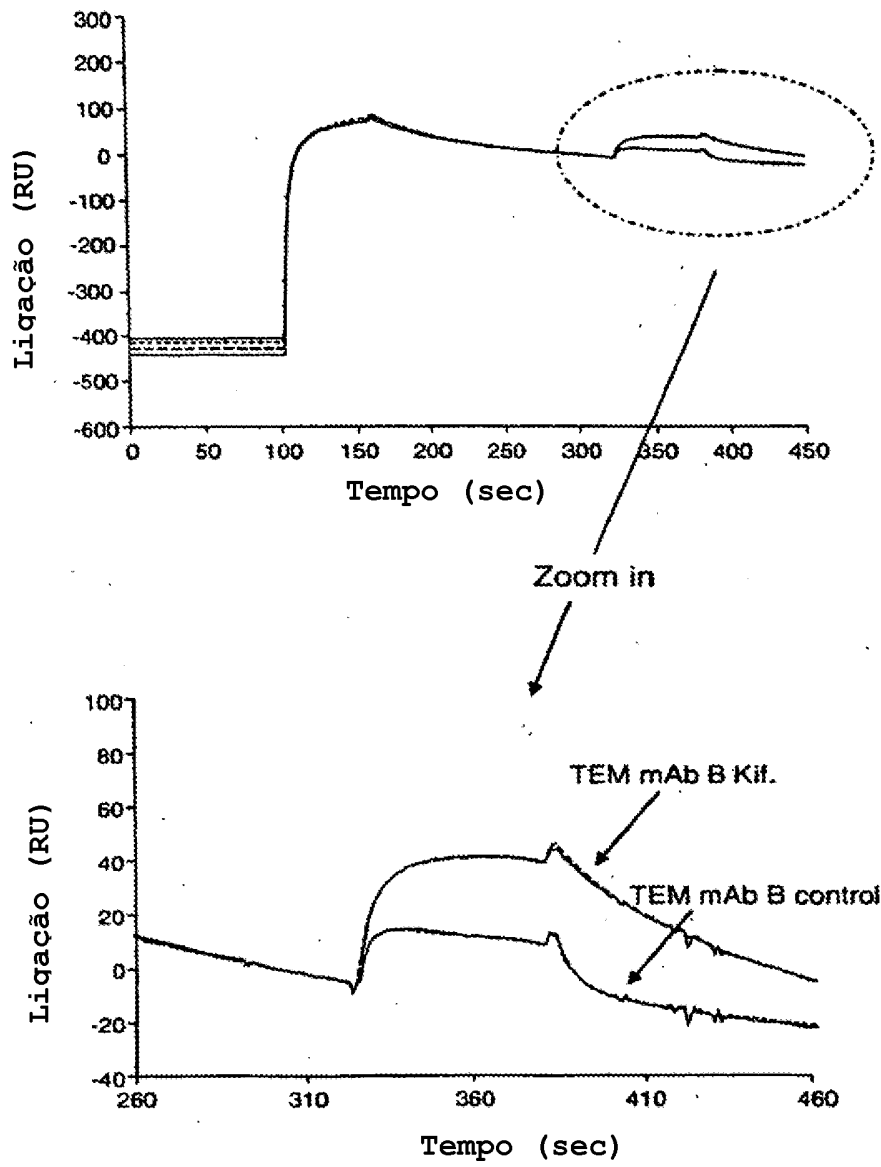


Figura 7

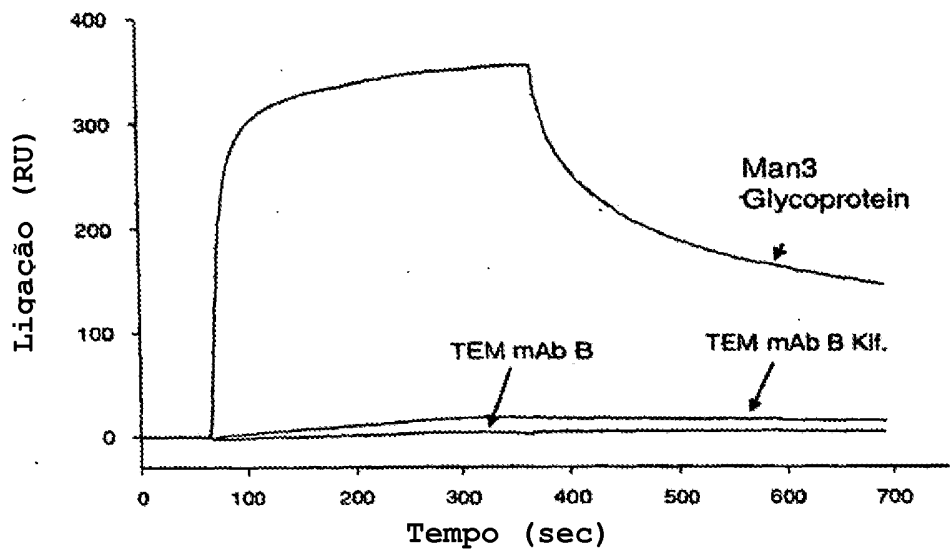


Figura 8

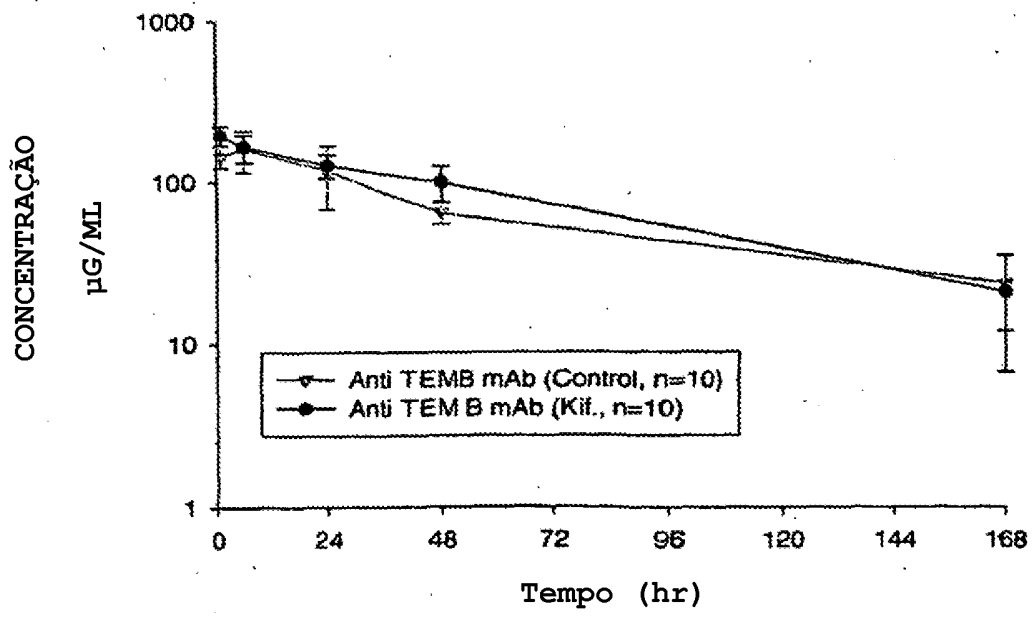


Figura 9

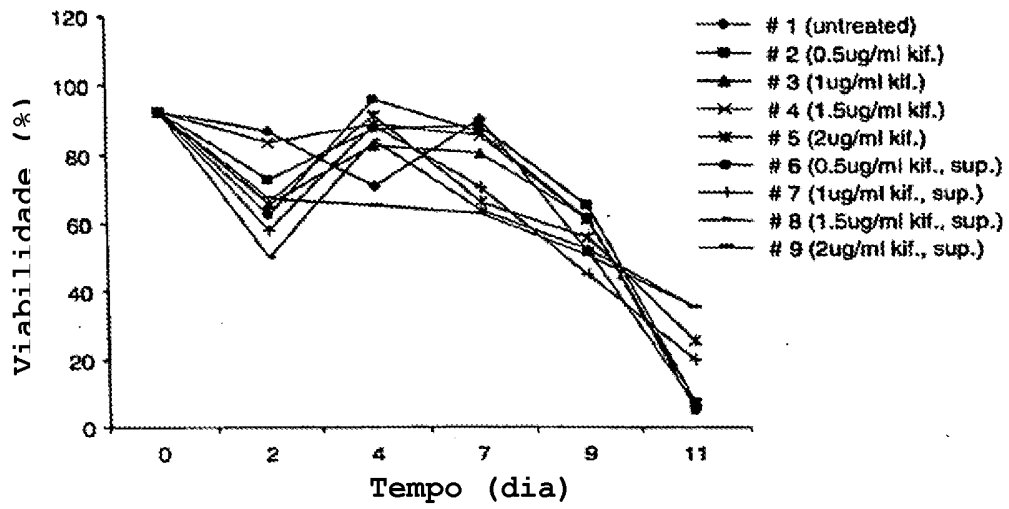


Figura 10A

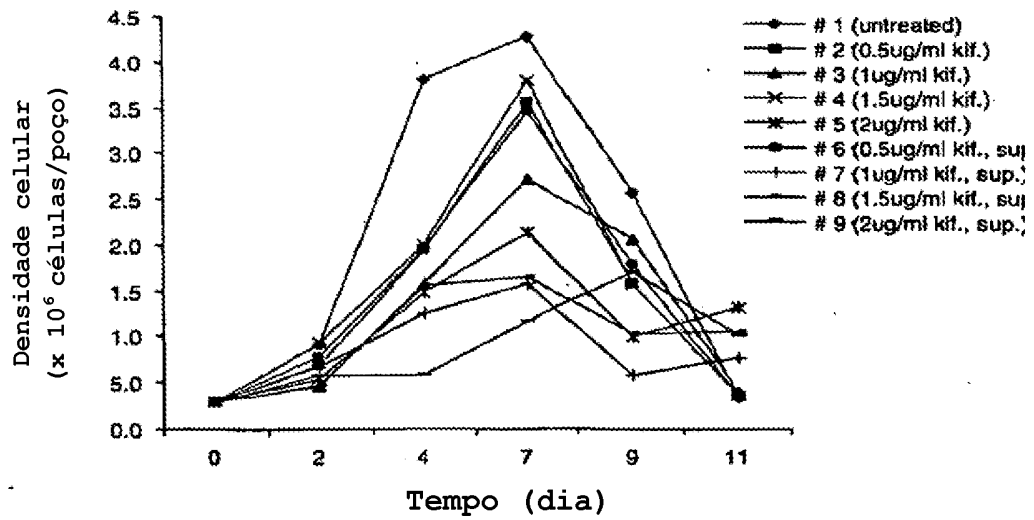


Figura 10B

Figura 11A

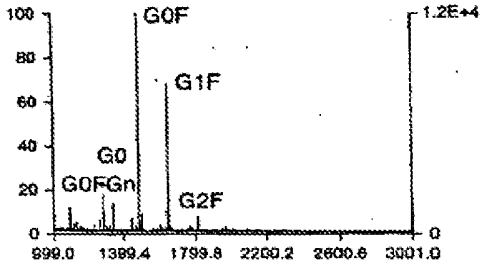


Figura 11B

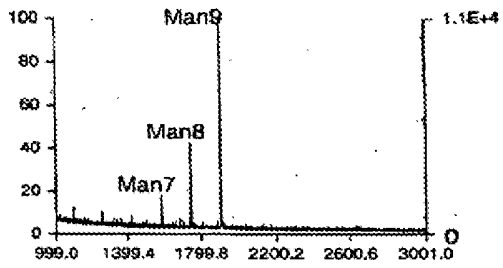


Figura 11C

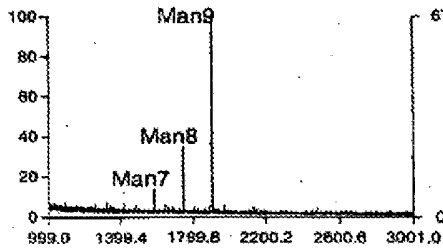


Figura 11D

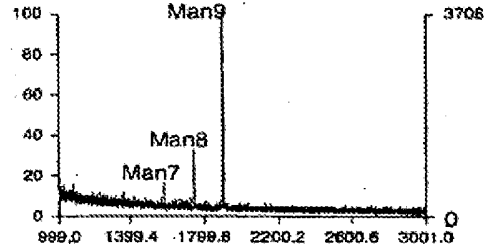


Figura 11E

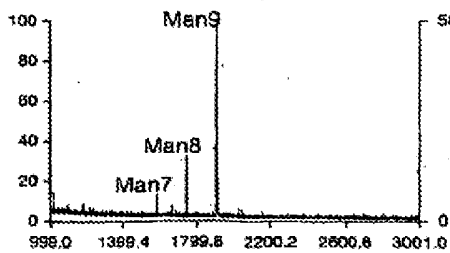
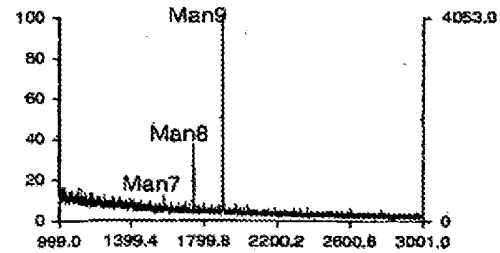


Figura 11F



Massa (m/z)

Figura 11G

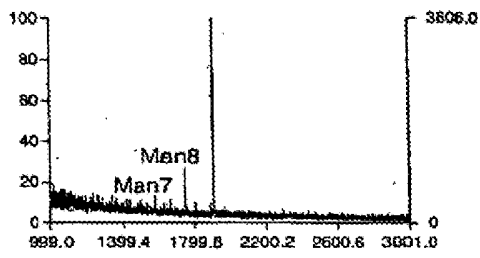


Figura 11H

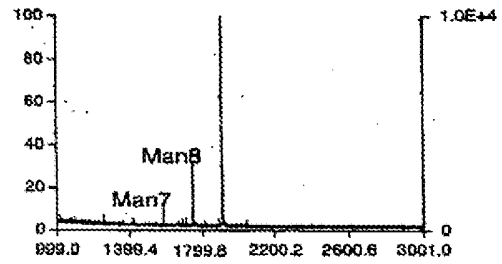


Figura 11I

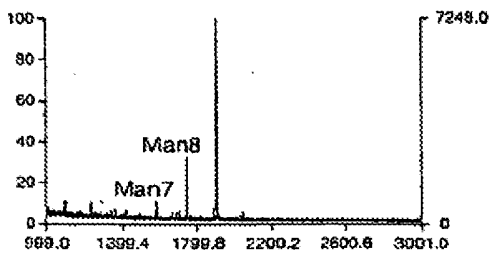


Figura 11J

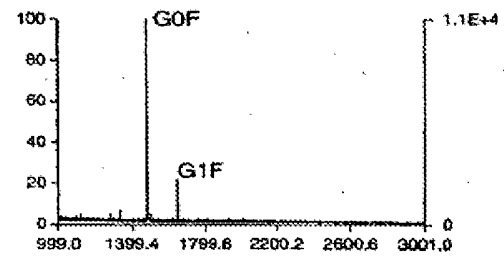
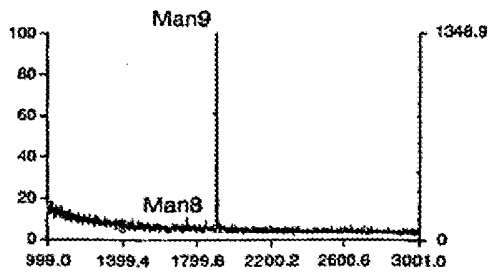


Figura 11K



Massa (m/z)

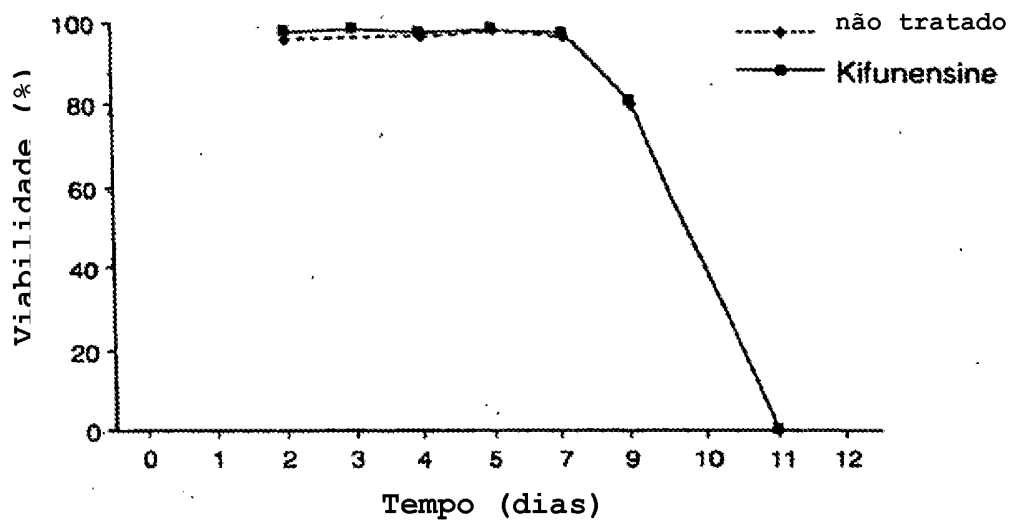


Figura 12A

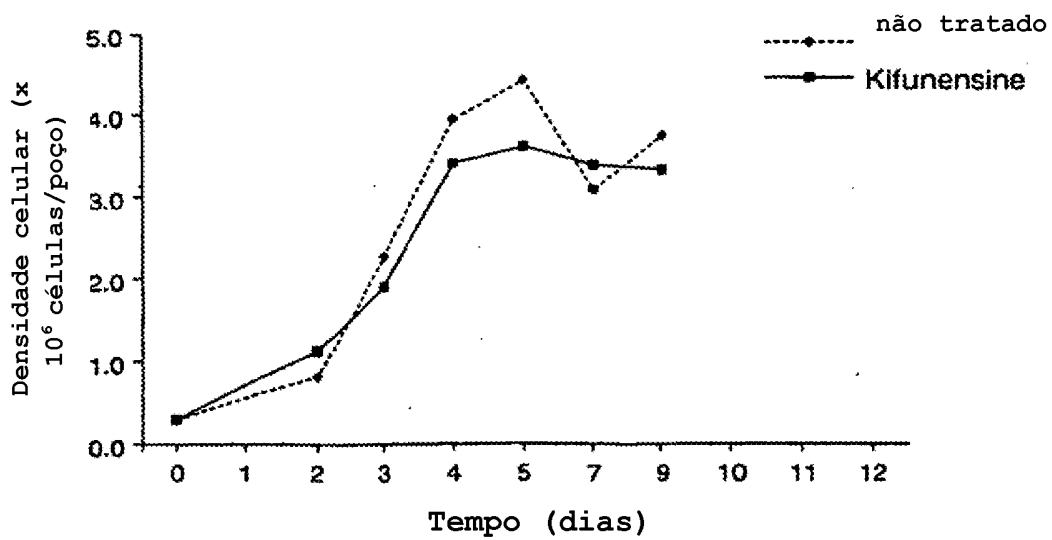


Figura 12B

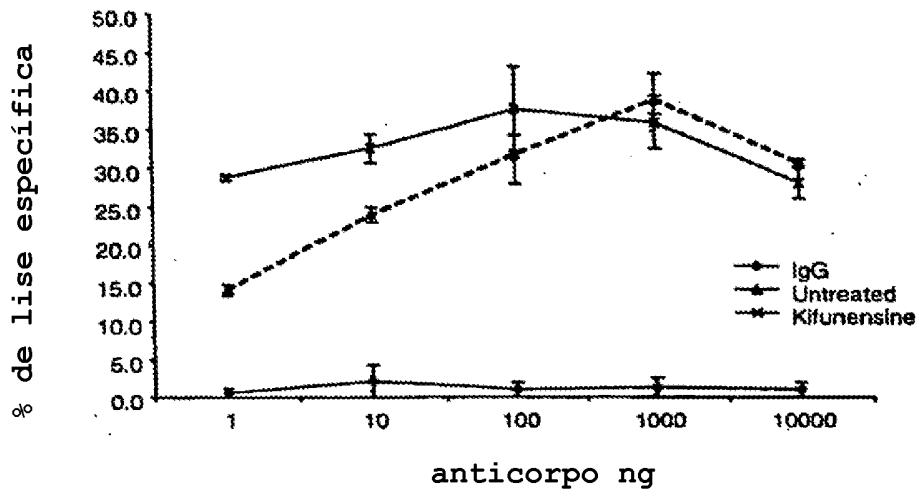


Figura 13A

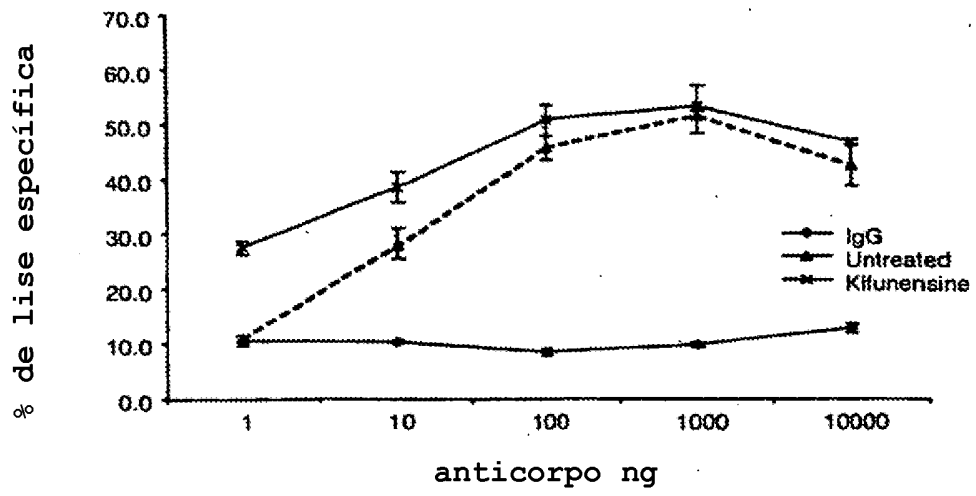


Figura 13B

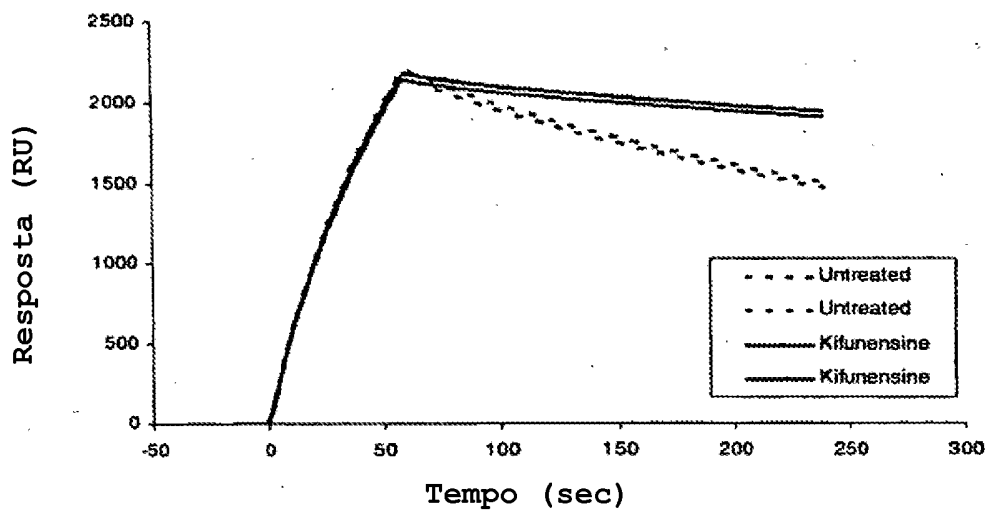


Figura 14

Figura 15A

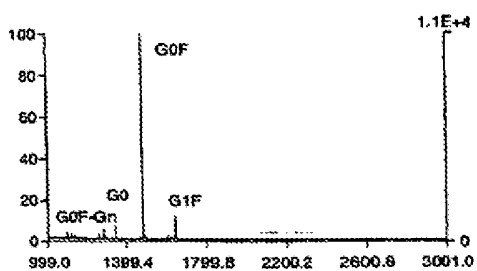


Figura 15B

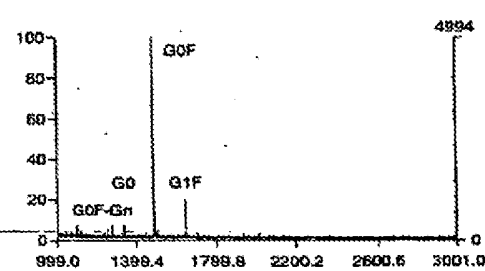


Figura 15C

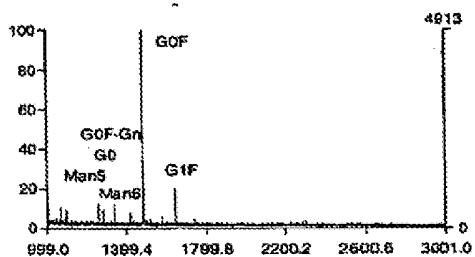


Figura 15D

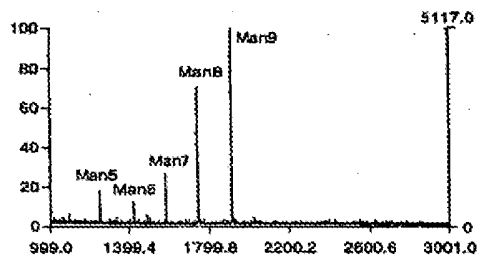


Figura 15E

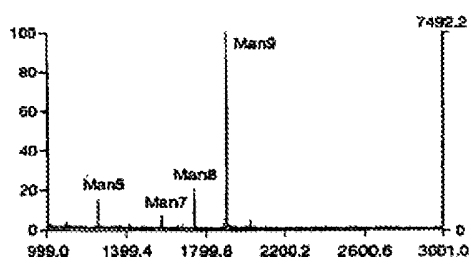
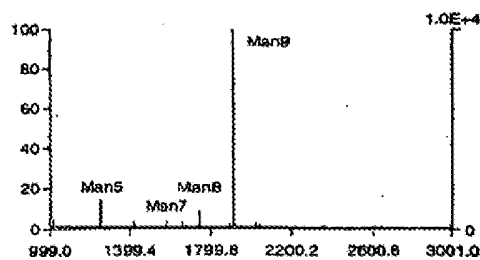


Figura 15F



Massa (m/z)

Figura 16A

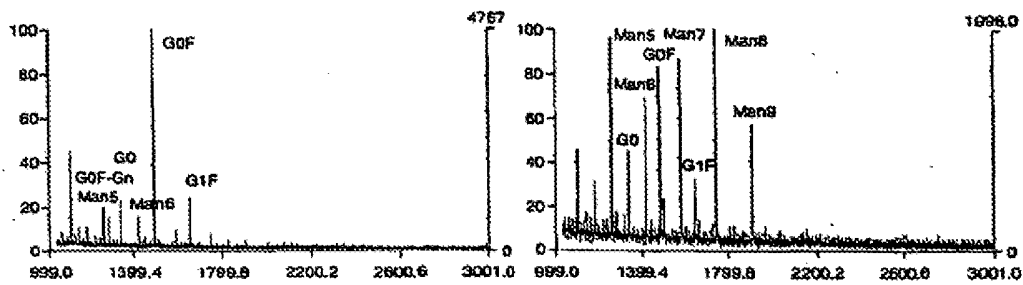


Figura 16B

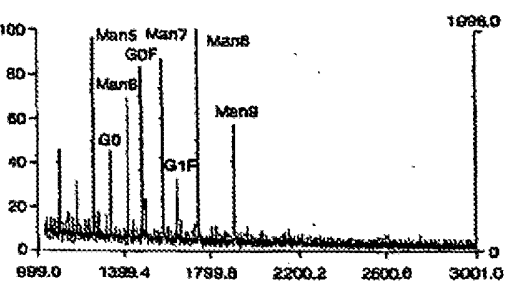


Figura 16C

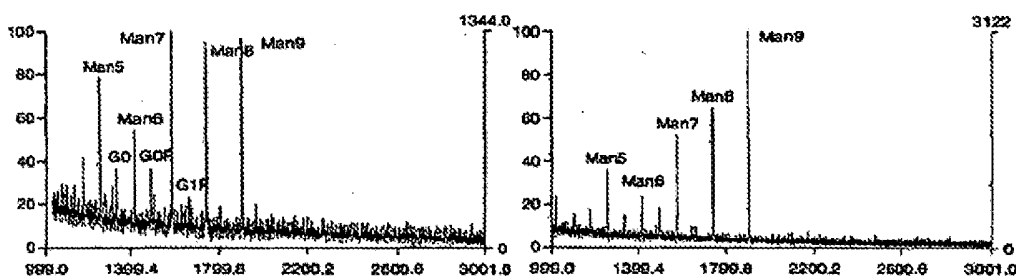


Figura 16D

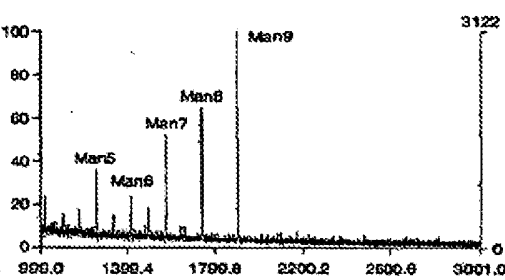
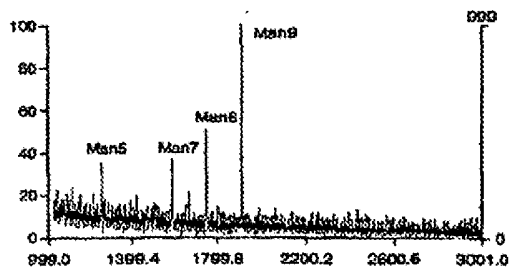


Figura 16E



Massa (m/z)

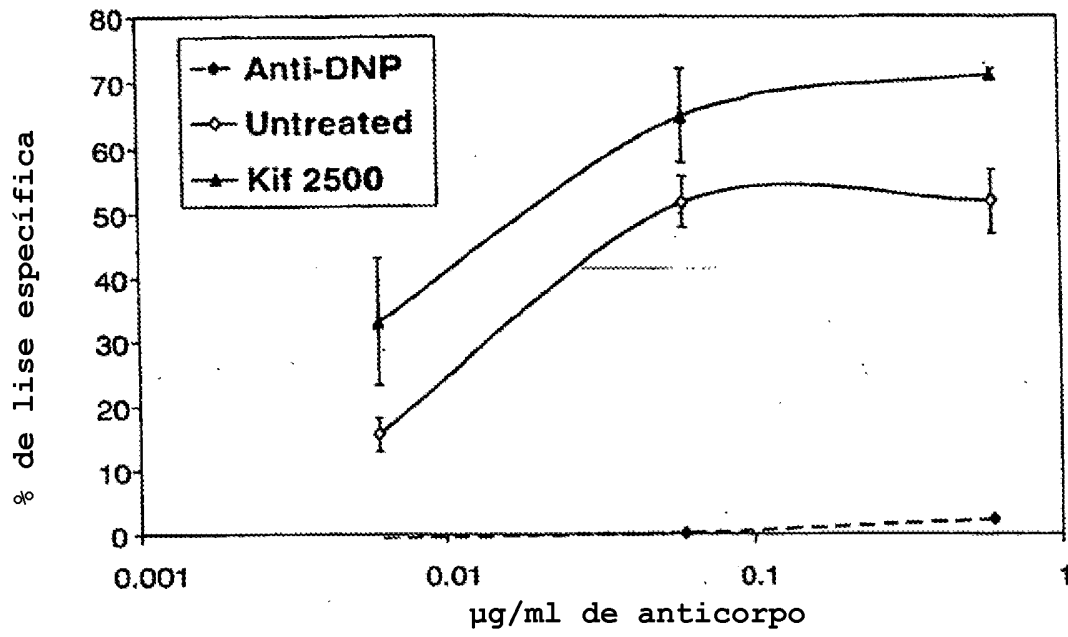


Figura 17A

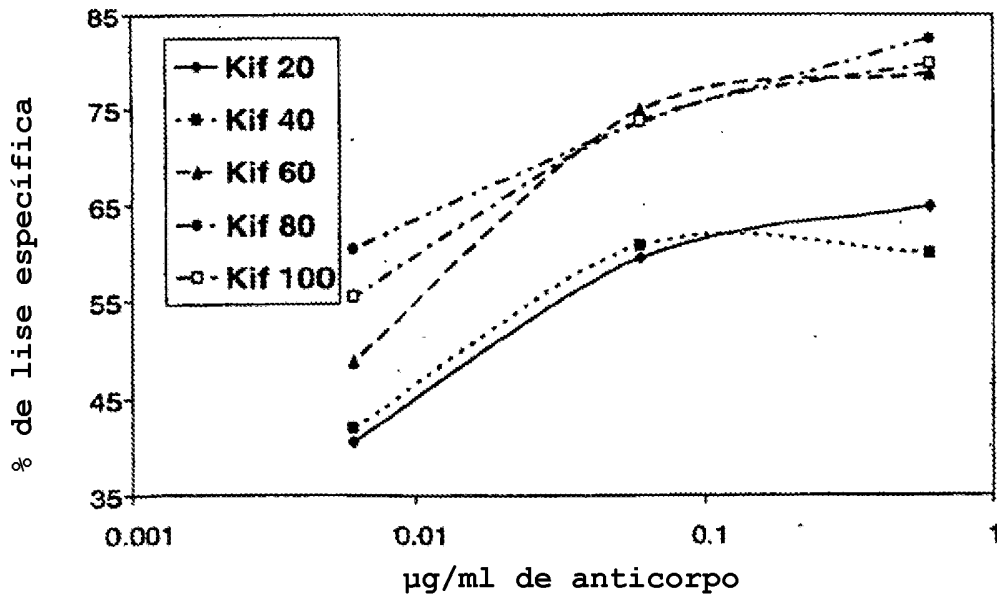


Figura 17B

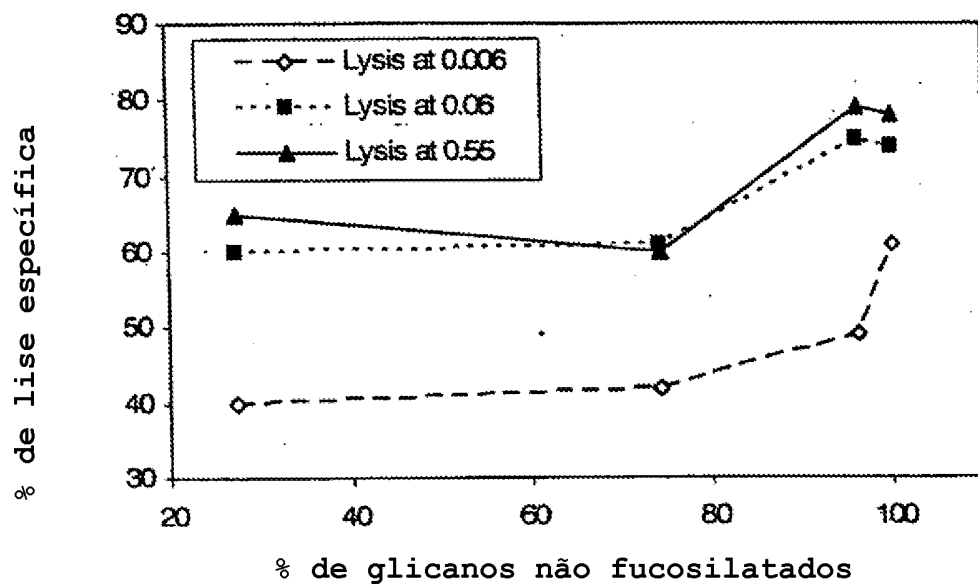


Figura 18

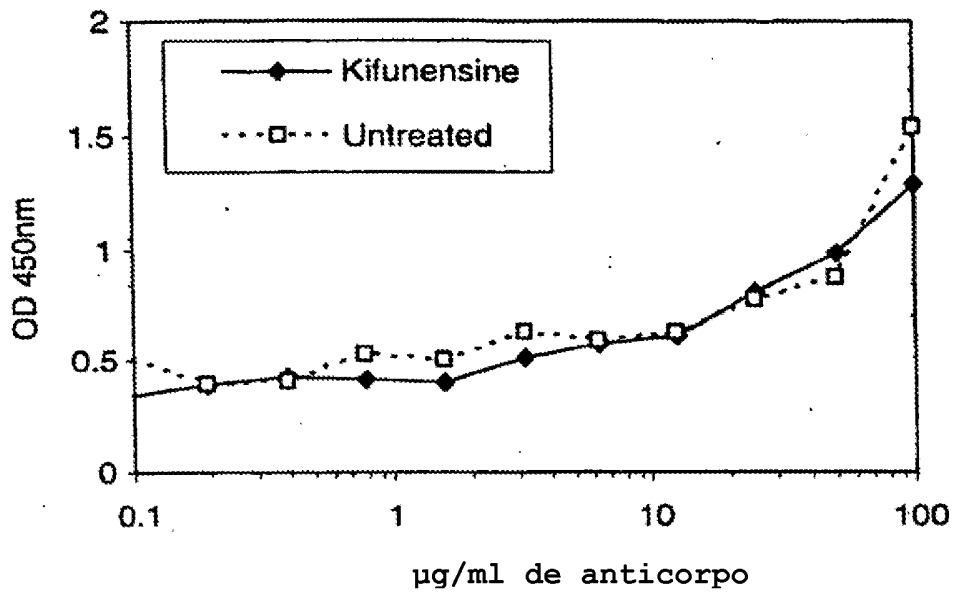


Figura 19A

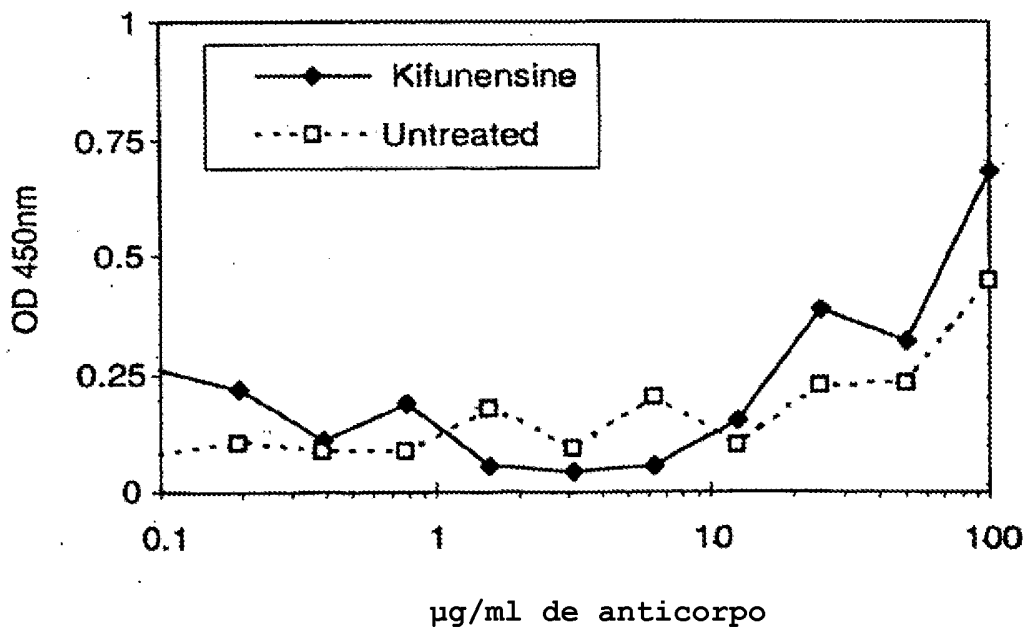


Figura 19B

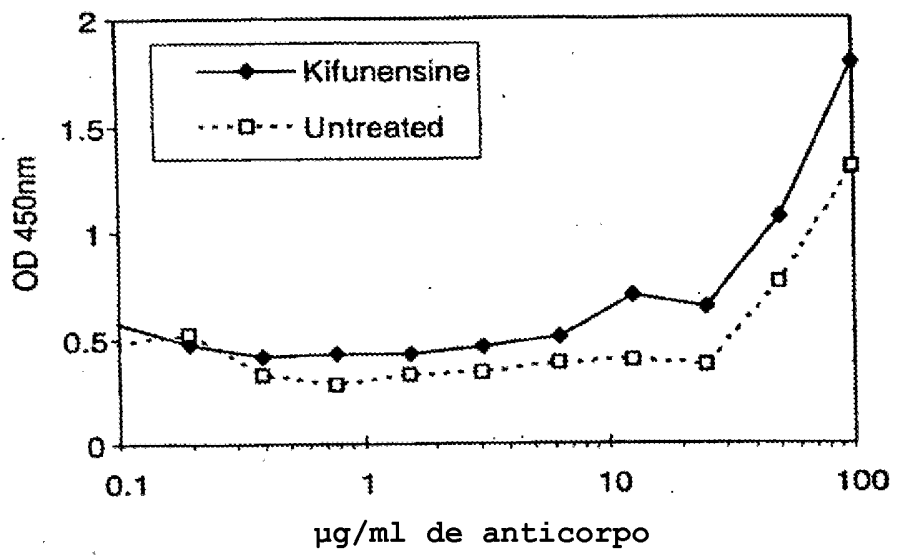


Figura 19C