

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2016139006, 05.03.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

05.03.2014 GB 1403912.7;

05.03.2014 GB 1403913.5;

02.04.2014 GB 1405952.1;

16.07.2014 GB 1412646.0

(43) Дата публикации заявки: 05.04.2018 Бюл. № 10

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 05.10.2016

(86) Заявка РСТ:

EP 2015/054687 (05.03.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2015/132364 (11.09.2015)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Большая Спасская, д. 25,
строение 3, ООО "Юридическая фирма
Городисский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):

ЮСБ Биофарма СПРЛ (BE)

(72) Автор(ы):

ФАЛЛАХ-АРАНИ Фарназ (GB),

ГРИФФИН Роберт Энтони (GB),

ХАМФРИЗ Дэвид Пол (GB),

ПИТЕРС Ширли Джейн (GB),

СМИТ Брайан Джон (GB),

СТЕФЕНС Пол Эдвард (GB)

(54) **МУЛЬТИМЕРНЫЕ Fc-БЕЛКИ**

(57) Формула изобретения

1. Мультимерный слитый белок, содержащий две или более полипептидных мономерных единицы;

где каждая полипептидная мономерная единица содержит Fc-домен антитела, содержащий две Fc-области тяжелой цепи;

где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит любой аминокислотный остаток, иной, чем цистеин, в положении 309, и является слитым своим С-концом с хвостовой частью, что заставляет мономерные единицы собираться в мультимер; и

где каждая полипептидная мономерная единица не содержит вариабельную область антитела.

2. Мультимерный слитый белок по п. 1, где Fc-домен антитела получают из IgG.

3. Мультимерный слитый белок по любому из предшествующих пунктов, где Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

4. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домен CH3, полученный из IgG1.

5. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий остаток аргинина в

положении 355.

6. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий остаток цистеина в положении 355.

7. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домен CH3, полученный из IgG4, в котором остаток глутамин в положении 355 заменяют остатком аргинина (Q355R) или остаток цистеина (Q355C).

8. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домен CH4, полученный из IgM.

9. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где хвостовая часть получают из IgM или IgA.

10. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит шарнирную область на своем N-конце.

11. Мультимерный слитый белок по п. 10, где шарнирная область содержит мутантную последовательность CPPC.

12. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий шесть или двенадцать полипептидных мономерных единиц.

13. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG1, в которых остаток лейцина в положении 234 и/или остаток пролина в положении 331 заменяют другой аминокислотой.

14. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG1, в которых остаток лейцина в положении 234 заменяют остатком фенилаланина и остаток пролина в положении 331 заменяют остатком серина (L234F/P331S).

15. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG4, в которых один или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из остатка фенилаланина в положении 234, остатка фенилаланина в положении 296, остатка глицина в положении 327, остатка серина в положении 330 и остатка серина в положении 331, заменяют другой аминокислотой.

16. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG4, в которых остаток фенилаланина в положении 234 заменяют остатком лейцина (F234L).

17. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG4, в которых остаток фенилаланина в положении 234 заменяют остатком лейцина и остаток фенилаланина в положении 296 заменяют остатком тирозина (F234L/F296Y).

18. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG4, в которых остаток глицина в положении 327 заменяют остатком аланина и остаток серина в положении 330 заменяют остатком аланина (G327A/S330A).

19. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG4, в которых остаток глицина в положении 327 заменяют остатком аланина и остаток серина в положении 331 заменяют остатком пролина (G327A/S331P).

20. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит домены CH2 и CH3, полученные из IgG4, в которых остаток серина в положении 330 заменяют остатком аланина и остаток серина в положении 331 заменяют остатком пролина (S330A/S331P).

21. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи является гибридом, содержащим домен CH2, полученный из IgG4, и домен CH3,

RU 2016139006 A

RU 2016139006 A

полученный из IgG1.

22. Мультимерный слитый белок по п. 21, где в каждой Fc-области тяжелой цепи один или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из остатка фенилаланина в положении 234, остатка фенилаланина в положении 296, остатка глицина в положении 327, остатка серина в положении 330 и остатка серина в положении 331, заменяют другой аминокислотой.

23. Мультимерный слитый белок по п. 21, в которых остаток фенилаланина в положении 234 заменяют остатком лейцина и остаток фенилаланина в положении 296 заменяют остатком тирозина (F234L/F296Y).

24. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, повышающих активность ингибирования фагоцитоза покрытых антителами клеток-мишеней макрофагами.

25. Мультимерный слитый белок по п. 24, содержащий одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из F234L, F234L и F296Y, G327A, G327A и S331P, S330A и S331P, и, G327A и S330A.

26. Мультимерный слитый белок по п. 25, где Fc-область тяжелой цепи содержит домен CH2, полученный из IgG4 и домен CH3, полученный из IgG1 или IgG4.

27. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, снижающих высвобождение цитокинов.

28. Мультимерный слитый белок по п. 27, содержащий одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из L234F, L234F и P331S, A327G и Y296F.

29. Мультимерный слитый белок по п. 28, где Fc-область тяжелой цепи содержит домен CH2 и CH3 домен, полученный из IgG1.

30. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, снижающих активацию тромбоцитов.

31. Мультимерный слитый белок по п. 30, содержащий одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из L234F, и L234F и P331S.

32. Мультимерный слитый белок по п. 31, где Fc-область тяжелой цепи содержит домен CH2 и домен CH3, полученный из IgG1.

33. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, изменяющих его профиль связывания Fc-рецептора.

34. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, связывающийся с FcRn.

35. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, повышающих его связывание с FcRn.

36. Мультимерный слитый белок по п. 35, содержащий одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из T250Q, M252Y, S254T, T256E, T307A, T307P, V308C, V308F, V308P, Q311A, Q311R, M428L, H433K, N434F и N434Y.

37. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, повышающих его связывание с FcγRIIb.

38. Мультимерный слитый белок по п. 37, содержащий одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из E258A, S267A, S267E и L328F.

39. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, снижающих его связывание с FcγR.

40. Мультимерный слитый белок по п. 39, содержащий одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из L234A, L235A, G236R, N297A, N297Q, S298A и L328R.

41. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, снижающих его связывание с C1q.

42. Мультимерный слитый белок по п. 41, содержащий одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из K322A, P331A, P331S, и L234F и P331S.

43. Мультимерный слитый белок по п. 42, где Fc-область тяжелой цепи содержит домен CH2 и домен CH3, полученный из IgG1.
44. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где Fc-домен получают из IgG4, и он дополнительно содержит одну или более мутаций, повышающих связывание FcγR.
45. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где Fc-домен является мутантным в результате замены остатка валина в положении 308 остатком цистеина (V308C).
46. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где две дисульфидные связи в шарнирной области удаляют посредством мутагенеза коровой последовательности шарнирной области CPPC в SPPS.
47. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где дисульфидную связь в хвостовой части удаляют посредством замены остатка цистеина в положении 575 остатком серина, треонина или аланина (C575S, C575T или C575A).
48. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где коровую последовательность шарнирной области CPPC подвергают мутагенезу в SPPS и остаток цистеина в положении 575 хвостовой части заменяют остатком серина, треонина или аланина (C575S, C575T или C575A).
49. Мультимерный слитый белок по п. 48, включающий, по существу, нековалентные междоменные взаимодействия.
50. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где участок гликозилирования в домене CH2 удаляют посредством замены остатка аспарагина в положении 297 остатком аланина (N297A) или остатком глутамина (N297Q).
51. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где участок гликозилирования в хвостовой части удаляют посредством замены остатка аспарагина в положении 563 остатком аланина (N563A) или остатком глутамина (N563Q).
52. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где участок гликозилирования в домене CH2 и участок гликозилирования в хвостовой части удаляют посредством замены остатка аспарагина в положении 297 остатком аланина или остатком глутамина и замены остатка аспарагина в положении 563 остатком аланина или остатком глутамина (N297A/N563A или N297A/N563Q или N297Q/N563A или N297Q/N563Q).
53. Мультимерный слитый белок по п. 1, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит или состоит из последовательности, приведенной в аминокислотах 6-222 любой из SEQ ID NO: 26-30 или аминокислотах 6-222 любой из SEQ ID NO: 32-47, или последовательности, приведенной в аминокислотах 6-333 SEQ ID NO: 30 и 31.
54. Мультимерный слитый белок по п. 53, где каждая Fc-область тяжелой цепи дополнительно содержит шарнирную область, имеющую последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 3-25.
55. Мультимерный слитый белок по п. 1, где каждая полипептидная мономерная единица содержит или состоит из двух идентичных полипептидных цепей, где каждая полипептидная цепь содержит или состоит из последовательности, приведенной в любой из SEQ ID NO: 26-47.
56. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, являющийся гексамерным или преимущественно гексамерным.
57. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, в котором аминокислота в положении 309 в каждой Fc-области тяжелой цепи является лейцином.
58. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, где каждая Fc-область тяжелой цепи содержит остаток гистидина в положении 310.
59. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, являющийся очищенным гексамером.
60. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, модулирующих высвобождение цитокинов.
61. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций,

модулирующих связывание с C1q.

62. Мультимерный слитый белок по п. 1 или 2, содержащий одну или более мутаций, модулирующих активацию тромбоцитов.

63. Смесь, содержащая мультимерный слитый белок по любому из пп. 1-62 в нескольких мультимерных формах, в которых смесь обогащают в отношении гексамерной формы мультимерного слитого белка.

64. Смесь по п. 63, в которой более 80% смеси представляют собой гексамер.

65. Выделенная последовательность ДНК, кодирующая полипептидную цепь полипептидной мономерной единицы мультимерного слитого белка по любому из предшествующих пунктов, или ее компонент.

66. Выделенная ДНК по п. 65, содержащая или состоящая из последовательности, приведенной в любой из SEQ ID NO: 50-59.

67. Клонировующий или экспрессирующий вектор, содержащий одну или более последовательностей ДНК по п. 65 или 66.

68. Клетка-хозяин, содержащая один или более клонирующих или экспрессирующих векторов по п. 67.

69. Способ получения мультимерного слитого белка по любому из пп. 1-62, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 68 в условиях, подходящих для экспрессии белка и сборки в мультимеры, и выделения и, необязательно, очистки мультимерного слитого белка.

70. Фармацевтическая композиция, содержащая мультимерный слитый белок по любому из пп. 1-62 в комбинации с фармацевтически приемлемым эксципиентом, дилуэнтном или носителем.

71. Фармацевтическая композиция по п. 70, дополнительно содержащая другие активные ингредиенты.

72. Применение фармацевтической композиции по п. 70 или 71 в лечении иммунных нарушений.

73. Применение мультимерного слитого белка по п. 1 или 2 в лечении иммунных нарушений.

74. Применение мультимерного слитого белка по п. 1 или 2 для получения лекарственного средства для лечения иммунных нарушений.

75. Применение по любому из пп. 72-74, где иммунное нарушение выбрано из иммунной тромбоцитопении, синдрома Гийена-Барре, болезни Кавасаки и хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии.