

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

(21)(22) Заявка: 2018118993, 28.09.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

30.09.2011 JP 2011-218736;
30.03.2012 JP PCT/JP2012/058603;
30.05.2012 JP 2012-123781;
30.05.2012 JP 1212-123782;
30.05.2012 JP 2012-123773;
20.06.2012 JP 2012-139211;
09.08.2012 JP 2012-177311

(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:
2014117500 29.04.2014

(43) Дата публикации заявки: 07.11.2018 Бюл. №
31

Адрес для переписки:

105082, Москва, пер. Спартаковский, 2, стр. 1,
секция 1, этаж 3, ЕВРОМАРКПАТ

(71) Заявитель(и):

ЧУГАИ СЕЙЯКУ КАБУСИКИ КАЙСЯ
(JP)

(72) Автор(ы):

ИГАВА Томоюки (JP),
МАЕДА Ацухико (JP),
МИМОТО Футо (JP),
КУРАМОТИ Тайти (JP)

(54) **ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩАЯ МОЛЕКУЛА, СОДЕРЖАЩАЯ FcRn-
СВЯЗЫВАЮЩИЙ ДОМЕН, КОТОРАЯ ОБЕСПЕЧИВАЕТ КЛИРЕНС АНТИГЕНОВ**

(57) Формула изобретения

1. Способ уменьшения связывающей активности в отношении существующего ADA у антигенсвязывающей молекулы, содержащей FcRn-связывающий домен, обладающий повышенной связывающей активностью в отношении FcRn при нейтральных или кислых значениях pH и повышенной связывающей активностью в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH, где указанный способ включает стадии:

а) обеспечения антигенсвязывающей молекулы, которая содержит FcRn-связывающий домен, обладающий повышенной связывающей активностью в отношении FcRn при нейтральных или кислых значениях pH и повышенной связывающей активностью в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH; и

б) замены аминокислоты в FcRn-связывающем домене в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой или глутамином с получением антигенсвязывающей молекулы, содержащей модифицированный FcRn-связывающий домен.

2. Способ уменьшения связывающей активности в отношении существующего ADA у антигенсвязывающей молекулы, содержащей FcRn-связывающий домен, обладающий повышенной связывающей активностью в отношении FcRn при нейтральных или кислых значениях pH и повышенной связывающей активностью в

отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH, где указанный способ включает стадии:

а) обеспечения антигенсвязывающей молекулы, которая содержит FcRn-связывающий домен, обладающий повышенной связывающей активностью в отношении FcRn при нейтральных или кислых значениях pH и повышенной связывающей активностью в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH; и

б) замены аминокислоты в FcRn-связывающем домене в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой или глутамином и в положении EU438 с получением антигенсвязывающей молекулы, содержащей модифицированный FcRn-связывающий домен.

3. Способ по п. 1, где стадия б) включает замену аминокислоты в FcRn-связывающем домене в одном или более дополнительных положениях, выбранных из группы, состоящей из EU387, EU422, EU424, EU426, EU433, EU436 и EU438.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где стадия б) включает введение аминокислотных замен в FcRn-связывающем домене, где аминокислотные замены представляют собой одно из сочетаний:

1	EU438R/EU440E
2	EU438R/EU440D
3	EU438K/EU440E
4	EU438K/EU440D

5. Способ увеличения общего числа антигенов, с которыми может связываться одна антигенсвязывающая молекула, без значительного повышения связывающей активности в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH по сравнению с исходным антителом, где указанный способ включает стадии:

а) обеспечения антигенсвязывающей молекулы, содержащей исходный FcRn-связывающий домен,

б) изменения исходного FcRn-связывающего домена, описанного на стадии а), путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более положений, выбранных из группы, состоящей из EU238, EU250, EU252, EU254, EU255, EU256, EU258, EU286, EU307, EU308, EU309, EU311, EU315, EU428, EU433, EU434 и EU436; и

с) изменения модифицированного FcRn-связывающего домена, описанного на стадии б), путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой и глутамином.

6. Способ по п. 5, где на стадии с) изменяют модифицированный FcRn-связывающий домен, описанный на стадии б), путем замены аминокислот в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более дополнительных положениях, выбранных из группы, включающей EU387, EU422, EU424, EU426, EU433, EU436 и EU438.

7. Способ облегчения внеклеточного высвобождения не содержащей антигена антигенсвязывающей молекулы, которая была поглощена клетками в антиген-связанной форме, без значительного повышения связывающей активности указанной антигенсвязывающей молекулы в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH по сравнению с исходным антителом, где способ включает стадии:

а) обеспечения антигенсвязывающей молекулы, содержащей исходный FcRn-связывающий домен,

б) изменения исходного FcRn-связывающего домена путем замены аминокислоты в последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более из положений, выбранных из группы, состоящей из EU238, EU250, EU252, EU254, EU255,

EU256, EU258, EU286, EU307, EU308, EU309, EU311, EU315, EU428, EU433, EU434 и EU436, и EU428; и

с) изменения модифицированного FcRn-связывающего домена, описанного на стадии б), путем замены аминокислоты в последовательности исходного FcRn-связывающего домена в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой и глутамином.

8. Способ по п. 7, где на стадии с) изменяют модифицированный FcRn-связывающий домен, описанный на стадии б), путем замены аминокислот в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более дополнительных положениях, выбранных из группы, включающей EU387, EU422, EU424, EU426, EU433, EU436 и EU438.

9. Способ повышения способности антигенсвязывающей молекулы удалять антиген из плазмы без значительного повышения связывающей активности в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH по сравнению с исходным антителом, где указанный способ включает стадии:

а) обеспечения антигенсвязывающей молекулы, содержащей исходный FcRn-связывающий домен,

б) изменения исходного FcRn-связывающего домена путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более положений, выбранных из группы, состоящей из EU238, EU250, EU252, EU254, EU255, EU256, EU258, EU286, EU307, EU308, EU309, EU311, EU315, EU428, EU433, EU434, EU436 и EU428; и

с) изменения модифицированного FcRn-связывающего домена, описанного на стадии б), путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой или глутамином.

10. Способ по п. 9, где на стадии с) изменяют модифицированный FcRn-связывающий домен, описанный на стадии б), путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более дополнительных положениях, выбранных из группы, включающей EU387, EU422, EU424, EU426, EU433, EU436 и EU438.

11. Способ улучшения фармакокинетических характеристик антигенсвязывающей молекулы без значительного повышения связывающей активности в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH по сравнению с исходным антителом, где указанный способ включает стадии:

а) обеспечения антигенсвязывающей молекулы, содержащей исходный FcRn-связывающий домен,

б) изменения исходного FcRn-связывающего домена путем замены аминокислоты в последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более из положений, выбранных из группы, состоящей из EU238, EU250, EU252, EU254, EU255, EU256, EU258, EU286, EU307, EU308, EU309, EU311, EU315, EU428, EU433, EU434 и EU436; и

с) изменения модифицированного FcRn-связывающего домена, описанного на стадии б), путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой или глутамином.

12. Способ по п. 11, где на стадии с) изменяют модифицированный FcRn-связывающий домен, описанный на стадии б), путем замены аминокислот в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более дополнительных положениях, выбранных из группы, включающей EU387,

EU422, EU424, EU426, EU433, EU436 и EU438.

13. Способ уменьшения концентрации общего или свободного антигена в плазме без значительного повышения связывающей активности в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH по сравнению с исходным антителом, где указанный способ включает стадии:

а) обеспечения антигенсвязывающей молекулы, содержащей исходный FcRn-связывающий домен, где антигенсвязывающая молекула содержит антигенсвязывающий домен, который способен связываться с указанным антигеном,

б) изменения исходного FcRn-связывающего домена путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более из положений, выбранных из группы, состоящей из EU238, EU250, EU252, EU254, EU255, EU256, EU258, EU286, EU307, EU308, EU309, EU311, EU315, EU428, EU433, EU434 и EU436; и

с) изменения модифицированного FcRn-связывающего домена, описанного на стадии б), путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой или глутамином.

14. Способ по п. 13, где на стадии с) изменяют модифицированный FcRn-связывающий домен, описанный на стадии б), путем замены аминокислот в аминокислотной последовательности исходного FcRn-связывающего домена в одном или более дополнительных положений, выбранных из группы, включающей EU387, EU422, EU424, EU426, EU433, EU436 и EU438.

15. Способ по любому из пп. 5-14, где аминокислотную замену, введенную на стадии а), осуществляют в трех или более положениях, в которых указанные три или более положения представляют собой одно из сочетаний:

a)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU286
b)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU308
c)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU286 и EU308
d)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU428
e)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU308 и EU428
f)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU250 и EU428
g)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU250 и EU308
h)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU250 и EU286 и EU308
i)	EU252 и EU434 и EU307 и EU311 и EU436 и EU250 и EU286 и EU308 и EU428

16. Способ по любому из пп. 5-14, где аминокислотную замену, введенную на стадии а), осуществляют в трех или более положениях, в которых указанные три или более положения представляют собой одно из сочетаний:

a)	EU252/EU434/EU307/EU311/EU286
b)	EU252/EU434/EU307/EU311/EU286/EU254
c)	EU252/EU434/EU307/EU311/EU436
d)	EU252/EU434/EU307/EU311/EU436/EU254
e)	EU252/EU434/EU307/EU311/EU436/EU250
f)	EU252/EU434/EU308/EU250
g)	EU252/EU434/EU308/EU250/EU436
h)	EU252/EU434/EU308/EU250/EU307/EU311

17. Способ по любому из пп. 5-14, где аминокислотную замену, введенную на стадии а), осуществляют в трех или более положениях, в которых указанные три или более положения представляют собой одно из сочетаний:

a)	EU252/EU315/EU434
b)	EU252/EU434/EU436

c)	EU252/EU254/EU434/EU436
----	-------------------------

18. Способ по любому из пп. 5-14, где аминокислотную замену, введенную на стадии а), осуществляют в трех или более положениях, в которых указанные три или более положения представляют собой одно из сочетаний:

a)	EU307/EU311/EU434
b)	EU307/EU309/EU311/EU434
c)	EU307/EU309/EU311/EU434
d)	EU250/EU252/EU434/EU436

19. Способ по любому из пп. 5-14, где стадия с) включает введение одной из замен или сочетаний:

1	EU438R/EU440E
2	EU438R/EU440D
3	EU438K/EU440E
4	EU438K/EU440D

20. Способ получения антигенсвязывающей молекулы, которая содержит Fc-домен, обладающий повышенной связывающей активностью в отношении FcRn при нейтральных или кислых значениях pH и пониженной связывающей активностью в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH, где указанный способ, состоящий из стадии:

(а) обеспечения Fc-домена, обладающего повышенной связывающей активностью в отношении FcRn в нейтральных или кислых диапазонах значений pH и в отношении существующего ADA в нейтральных диапазонах значений pH,

(b) замены аминокислоты в аминокислотной последовательности Fc области

(i) в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой или глутамином, и

(ii) в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из EU387, EU422, EU424, EU426, EU433, EU436 и EU438,

(с) изменения по меньшей мере одной аминокислоты в антигенсвязывающем домене с целью получения pH-зависимого антигенсвязывающего домена, или выбора ион кальция-зависимого антигенсвязывающего домена;

(d) получения гена, кодирующего антигенсвязывающую молекулу, в которой человеческий Fc-домен, полученный на стадии b), и антигенсвязывающий домен, полученный на стадии (с), связаны, и

(е) получения антигенсвязывающей молекулы с использованием гена, полученного на стадии (d).

21. Способ получения антигенсвязывающей молекулы, содержащей Fc домен, обладающий повышенной связывающей активностью в отношении FcRn при нейтральных или кислых значениях pH и повышенной связывающей активностью в отношении существующего ADA при нейтральных значениях pH, где указанный способ включает стадии:

а) обеспечения Fc домена, обладающего повышенной связывающей активностью в отношении FcRn при нейтральных или кислых значениях pH и существующего ADA при нейтральных значениях pH;

б) замены аминокислоты в аминокислотной последовательности Fc области в положении EU438 глутаминовой кислотой, аргинином, серином или лизином и в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой или глутамином;

с) замены по меньшей мере одной аминокислоты в антигенсвязывающем домене для получения pH-зависимого антигенсвязывающего домена, или выбора ион кальция-зависимого антигенсвязывающего домена;

d) получения гена, кодирующего антигенсвязывающую молекулу, в котором человеческий Fc домен, полученный на стадии b), и антигенсвязывающий домен, полученный на стадии c) связаны, и

e) получения антигенсвязывающей молекулы, используя ген, полученный на стадии d).

22. Способ по п. 20, где Fc-домен, обладающий повышенной связывающей активностью в отношении FcRn и существующего ADA в нейтральных или кислых диапазонах значений pH и в отношении существующего ADA в нейтральных диапазонах значений pH, содержит аминокислотную замену в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из EU238, EU250, EU252, EU254, EU255, EU256, EU258, EU286, EU307, EU308, EU309, EU311, EU315, EU428, EU433, EU434 и EU436.

23. Способ получения антигенсвязывающей молекулы, который включает стадии:

(a) выбора исходного FcRn-связывающего домена и изменения исходного FcRn заменой аминокислоты в аминокислотной последовательности на другую аминокислоту

(i) в положении EU440 глутаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой или глутамином, и

(ii) в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из EU387, EU422, EU424, EU426, EU433, EU436 и EU438;

(b) выбора антигенсвязывающего домена антигенсвязывающей молекулы и изменения по меньшей мере одной аминокислоты в антигенсвязывающем домене для получения pH-зависимого антигенсвязывающего домена или ион кальция-зависимого антигенсвязывающего домена;

(c) получения гена, кодирующего антигенсвязывающую молекулу, в которой человеческий FcRn-связывающий домен и антигенсвязывающий домен, полученные на стадиях (a) и (b), связаны; и

(d) получения антигенсвязывающей молекулы с использованием гена, полученного в пункте (c).

24. Способ по п. 23, где на стадии a) выбирают исходный FcRn-связывающий домен и изменяют исходный FcRn путем замены аминокислоты в аминокислотной последовательности другой аминокислотой в одном или более дополнительных положениях, выбранных из группы, включающей EU238, EU250, EU252, EU254, EU255, EU256, EU258, EU286, EU307, EU308, EU309, EU311, EU315, EU428, EU433, EU434 и EU436.