



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ(21)(22) Заявка: **2009148270/10**, 24.12.2009

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

15.07.2003 US 60/487,512

31.03.2004 US 60/558,216

31.03.2004 GB 0407315.1

24.05.2004 US 60/573,791

(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:
2006104618 14.02.2006(43) Дата публикации заявки: **27.06.2011** Бюл. № 18

Адрес для переписки:

**129090, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", А.В.Мицу**

(71) Заявитель(и):

**КЕМБРИДЖ АНТИБОДИ
ТЕКНОЛОДЖИ ЛИМИТЕД (GB)**

(72) Автор(ы):

**МОНК Филлип Дэвид (GB),
ДЖЕРМУТУС Лутц (GB),
МИНТЕР Ральф Реймонд (GB),
ШОРРОК Силия Патрисия (GB)****(54) МОЛЕКУЛЫ АНТИТЕЛ ЧЕЛОВЕКА К IL-13****(57) Формула изобретения**

1. Способ получения антигенсвязывающего домена антитела, специфичного в отношении IL-13 человека, при этом способ включает в себя получение посредством присоединения, делеции, замены или инсерции одной или нескольких аминокислот в аминокислотной последовательности исходного домена VH, содержащего HCDR 1, HCDR2 и HCDR3, где HCDR1, HCDR2 и HCDR3 исходного домена VH представляют собой набор HCDR BAK167A11, в котором, согласно определению, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, набор HCDR BAK615E3, в котором, согласно определению, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 153, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, набор HCDR BAK582F7, в котором, согласно определению, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 141, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143, или набор HCDR BAK612B5, в котором, согласно определению, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 149, домена VH, который

представляет собой вариант аминокислотной последовательности исходного домена VH, и необязательно объединение полученного таким образом домена VH с одним или несколькими доменами VL, чтобы получить одну или несколько комбинаций VH/VL; и

тестирование указанного домена VH, который представляет собой вариант аминокислотной последовательности исходного домена VH, или комбинации или комбинаций VH/VL, чтобы идентифицировать антигенсвязывающий домен антитела, специфичный в отношении IL-13 человека.

2. Способ по п.1, в котором аминокислотная последовательность исходного домена VH выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 55 и SEQ ID NO: 33.

3. Способ по п.1, в котором указанный один или несколько доменов VL получают посредством присоединения, делеции, замены или инсерции одной или нескольких аминокислот в аминокислотной последовательности исходного домена VL, содержащего LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где LCDR1, LCDR2 и LCDR3 исходного домена VL представляют собой набор LCDR BAK167A11, в котором, согласно определению, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, набор LCDR BAK615E3, в котором, согласно определению, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, набор LCDR BAK582F7, в котором, согласно определению, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 144, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146, или набор LCDR BAK612B5, в котором, согласно определению, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 150, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 151, LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152, с получением одного или нескольких доменов VL, каждый из которых представляет собой вариант аминокислотной последовательности исходного домена VL.

4. Способ по п.3, в котором аминокислотная последовательность исходного домена VL выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 34.

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором указанный домен VH, который представляет собой вариант аминокислотной последовательности исходного домена VH, получают путем мутагенеза CDR.

6. Способ лечения заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из астмы, атопического дерматита, аллергического ринита, фиброза и лимфомы Ходжкина, при этом способ включает в себя введение изолированного специфического связывающего партнера для IL-13 человека пациенту, имеющему заболевание или расстройство или подвергаемому риску развития заболевания или расстройства,

где указанный специфический связывающий партнер содержит антигенсвязывающий участок антитела, который состоит из домена VH антитела человека и домена VL антитела человека и который содержит набор CDR HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, при этом домен VH содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а домен VL содержит LCDR1, LCDR2 и LCDR3, причем набор CDR состоит из набора CDR, выбранного из группы, состоящей из

набора CDR BAK278D6, в котором, согласно определению, HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HCDR2 имеет аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 2, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 и LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6,

набора CDR, который содержит одну или две аминокислотных замены по сравнению с набором CDR BAK278D6, и

каждого набора CDR, которые показаны для отдельных клонов в таблице 1.

7. Изолированный специфический связывающий партнер для IL-13 человека, содержащий участок антигенсвязывающего домена антитела, который состоит из домена VH антитела человека и домена VL антитела человека и который содержит набор CDR, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, в котором домен VH содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а домен VL содержит LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где

HCDR1 имеет аминокислотную последовательность, которая имеет формулу $HX_1 HX_2 G HX_3 S$

где HX_1 выбрана из группы, состоящей из N, Q, D, L, G и E,

HX_2 выбрана из группы, состоящей из Y и T,

HX_3 выбрана из группы, состоящей из V, I, F и L,

HCDR2 имеет аминокислотную последовательность, которая имеет формулу $W I HX_4 HX_5 HX_6 HX_7 G HX_8 T HX_9 Y HX_{10} HX_{11} HX_{12} F HX_{13} HX_{14}$,

где HX_4 выбрана из группы, состоящей из S, D, N, A, R, G и E,

HX_5 выбрана из группы, состоящей из A, D, G, T, P, N и Y,

HX_6 выбрана из группы, состоящей из N, D, L, A, P, T, S, I и R,

HX_7 выбрана из группы, состоящей из N, S, T, D, G, K и I,

HX_8 выбрана из группы, состоящей из D, T, E, Q, L, Y, N, V, A, M и G,

HX_9 выбрана из группы, состоящей из N, I, L, Q, S, M, H, D и K,

HX_{10} выбрана из группы, состоящей из G и R,

HX_{11} выбрана из группы, состоящей из Q и R,

HX_{12} выбрана из группы, состоящей из E, K и G,

HX_{13} выбрана из группы, состоящей из Q и R,

HX_{14} выбрана из группы, состоящей из G и K,

HCDR3 имеет аминокислотную последовательность, которая имеет формулу $D HX_{15} HX_{16} HX_{17} HX_{18} W A R W HX_{19} F HX_{20} L$,

где HX_{15} выбрана из группы, состоящей из S, R и D,

HX_{16} выбрана из группы, состоящей из S, N, D, T и P,

HX_{17} выбрана из группы, состоящей из S и R,

HX_{18} выбрана из группы, состоящей из S, N, A, I, R, P и K,

HX_{19} выбрана из группы, состоящей из F и Y,

HX_{20} выбрана из группы, состоящей из D и Y,

LCDR1 имеет аминокислотную последовательность, которая имеет формулу $G G LX_1 LX_2 LX_3 G LX_4 LX_5 L V H$,

где LX_1 выбрана из группы, состоящей из N, D и S,

LX_2 выбрана из группы, состоящей из N, I, L, M, C, V, K, Y, F, R, T, S, A, H и G,

LX_3 выбрана из группы, состоящей из I и V,

LX_4 выбрана из группы, состоящей из S и G,

LX_5 выбрана из группы, состоящей из K и R,

LCDR2 имеет аминокислотную последовательность, которая имеет формулу $D D G D R P LX_6$

где LX_6 выбрана из группы, состоящей из S и T,

LCDR3 имеет аминокислотную последовательность, которая имеет формулу Q V W D T G S L X₇ P V L X₈,

где L X₇ выбрана из группы, состоящей из D и N,

L X₈ выбрана из группы, состоящей из V и I.

8. Изолированный специфический связывающий партнер по п.7, в котором

H X₁ выбрана из группы, состоящей из D и N,

H X₂ означает Y,

H X₃ означает L,

H X₄ выбрана из группы, состоящей из S и G,

H X₅ выбрана из группы, состоящей из T и A,

H X₆ означает N,

H X₇ выбрана из группы, состоящей из N и I,

H X₈ означает D,

H X₉ выбрана из группы, состоящей из N, D и K,

H X₁₀ означает G,

H X₁₂ выбрана из группы, состоящей из E и G,

H X₁₃ означает Q,

H X₁₉ означает F,

L X₁ выбрана из группы, состоящей из N и S,

L X₂ выбрана из группы, состоящей из N, Y, T, S, и I,

L X₆ означает S,

L X₇ означает D.

9. Изолированный специфический связывающий партнер по п.7, в котором

H X₁ выбрана из группы, состоящей из N и D,

H X₂ означает Y,

H X₃ означает L,

H X₄ выбрана из группы, состоящей из S и G,

H X₅ выбрана из группы, состоящей из A и T,

H X₆ означает N,

H X₇ означает N,

H X₈ выбрана из группы, состоящей из D и G,

H X₉ выбрана из группы, состоящей из I, S, N и D,

H X₁₁ означает Q,

H X₁₂ означает E и K,

H X₁₄ означает G,

H X₁₅ означает S,

H X₁₆ выбрана из группы, состоящей из S и N,

H X₁₇ означает S,

H X₁₈ выбрана из группы, состоящей из S и N,

H X₁₉ означает F,

H X₂₀ означает D,

L X₁ выбрана из группы, состоящей из N и D,

L X₃ означает I,

L X₈ означает V.

10. Изолированный специфический связывающий партнер по п.7, в котором

H X₇ выбрана из группы, состоящей из N, S, T, D, G и K,

H X₈ выбрана из группы, состоящей из D, T, E, Q, L, Y, N, V, A, M,

H X₉ выбрана из группы, состоящей из N, I, L, Q, S, M и H,

HX₁₀ означает G,
HX₁₁ означает Q,
HX₁₂ означает F,
HX₁₃ означает Q,
HX₁₄ означает G,
HX₁₅ означает S,
HX₁₆ выбрана из группы, состоящей из N и S,
HX₁₇ означает S,
HX₁₈ выбрана из группы, состоящей из N и S,
HX₁₉ означает F,
HX₂₀ означает D,
LX₁ означает N,
LX₂ выбрана из группы, состоящей из N и I,
LX₃ означает I,
LX₄ означает S,
LX₅ означает K,
LX₆ означает S,
LX₇ означает D,
LX₈ означает V.

11. Изолированный специфический связывающий партнер по п.10, в котором
HX₁ выбрана из группы, состоящей из N, Q и D,
HX₃ выбрана из группы, состоящей из L, V и I,
HX₄ выбрана из группы, состоящей из S, N, A и R,
HX₅ выбрана из группы, состоящей из A, D, T, G, N и Y,
HX₆ выбрана из группы, состоящей из N, A, P, S, D и I,
HX₇ выбрана из группы, состоящей из N, T, D и G,
HX₈ выбрана из группы, состоящей из D, Q, Y и N,
HX₉ выбрана из группы, состоящей из N, Q, S и I.

12. Специфический связывающий партнер по п.7, который нейтрализует IL-13 человека.

13. Специфический связывающий партнер по п.12, который нейтрализует IL-13 человека с эффективностью, равной или лучшей, чем эффективность антигенсвязывающего участка для IL-13, образованного VH-доменом BAK502G9 (SEQ ID NO: 15) и VL-доменом BAK502G9 (SEQ ID NO: 16), при этом эффективность специфического связывающего партнера и эффективность антигенсвязывающего участка определяют в одних и тех же условиях.

14. Специфический связывающий партнер по п.7, который содержит молекулу антитела scFv.

15. Специфический связывающий партнер по п.7, который содержит константную область антитела.

16. Специфический связывающий партнер по п.15, который содержит целое антитело.

17. Специфический связывающий партнер по п.16, в котором целое антитело является IgG4.

18. Изолированный специфический связывающий партнер по п.7, который связывает вариант IL-13 человека, в котором аргинин в положении 130 заменен глутамином.

19. Изолированный специфический связывающий партнер по п.7, который связывает IL-13 примата, отличного от человека.

20. Изолированный специфический связывающий партнер по п.19, в котором IL-13 примата, отличного от человека, является IL-13 макаки-резус или макаки-крабоеда.

21. Изолированный домен VH антитела специфического связывающего партнера по любому из пп.7-20.

22. Изолированный домен VL антитела специфического связывающего партнера по любому из пп.7-20.

23. Композиция, содержащая специфический связывающий партнер, домен VH антитела или домен VL антитела по любому из пп. 7-22 и, по меньшей мере, один дополнительный компонент.

24. Композиция по п.23, содержащая фармацевтически приемлемый эксципиент, наполнитель или носитель.

25. Изолированная нуклеиновая кислота, которая содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую специфический связывающий партнер или домен VH или VL антитела специфического связывающего партнера по любому из пп.7-22.

26. Клетка-хозяин, трансформированная *in vitro* нуклеиновой кислотой по п.25.

27. Способ получения специфического связывающего партнера или домена VH или VL антитела, при этом способ включает в себя культивирование клеток-хозяев по п.26 в условиях, подходящих для получения указанного специфического связывающего партнера или домена VH или VL антитела.

28. Способ по п.27, дополнительно включающий в себя выделение и/или очистку указанного специфического связывающего партнера или варибельного домена VH или VL антитела.

29. Способ по п.27 или 28, дополнительно включающий в себя введение специфического связывающего партнера или варибельного домена VH или VL антитела в композицию, содержащую, по меньшей мере, один дополнительный компонент.

30. Способ по п.27, дополнительно включающий в себя связывание специфического связывающего партнера, который связывает IL-13 человека, с IL-13 или фрагментом IL-13.

31. Способ, включающий в себя связывание специфического связывающего партнера, который связывает IL-13 по любому из пп.7-20 с IL-13 человека или фрагментом IL-13 человека.

32. Способ по п.30 или 31, в котором указанное связывание происходит *in vitro*.

33. Способ по п.30 или 31, включающий в себя количественное определение связывания специфического связывающего партнера с IL-13 или фрагментом IL-13.

34. Способ по п.27 или 28, дополнительно включающий в себя применение специфического связывающего партнера в производстве лекарственного средства для лечения заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из астмы, atopического дерматита, аллергического ринита, фиброза, воспалительного заболевания кишечника и лимфомы Ходжкина.

35. Применение специфического связывающего партнера по любому из пп.7-20 в производстве лекарственного средства для лечения заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из астмы, atopического дерматита, аллергического ринита, фиброза, воспалительного заболевания кишечника и лимфомы Ходжкина.

36. Способ лечения заболевания или расстройства, выбранного из группы, состоящей из астмы, atopического дерматита, аллергического ринита, фиброза и лимфомы Ходжкина, при этом способ включает в себя введение специфического связывающего партнера по любому из пп.7-20 пациенту, имеющему заболевание или расстройство или подвергнутому риску развития заболевания или расстройства.