РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2020 109 423** (13) **A**

(51) МПК
C07K 14/785 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: **2020109423, 04.09.2018**

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
06.09.2017 US 62/554,777;
08.01.2018 US 62/614,774

(43) Дата публикации заявки: **06.10.2021** Бюл. № **28**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **06.04.2020**

(86) Заявка PCT:
US 2018/049390 (04.09.2018)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2019/050856 (14.03.2019)

Адрес для переписки:
190900, г. Санкт-Петербург, BOX 1125, Нилова Мария Иннокентьевна

(71) Заявитель(и):
ЭЙРВЭЙ ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):
РОЗЕНБАУМ, Джен Сьюзан (US),
КУАСТ, Фредерик Гьяпон (US),
КАУП, Маттиас (US),
ШТЁКЛЬ, Ларс (US)

(54) СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СУРФАКТАНТНОГО БЕЛКА D (SP-D)

(57) Формула изобретения

1. Композиция, содержащая полипептид сурфактантного белка D (SP-D) человека, полученная способом, включающим:

a) введение полинуклеотида, кодирующего полипептид SP-D, в клетку млекопитающего, являющегося человеком;

b) культивирование указанной клетки в условиях, при которых экспрессируется указанный полипептид SP-D; и

c) выделение указанного экспрессированного полипептида SP-D из указанной клетки.

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанная клетка происходит из клетки миелоидного лейкоза человека.

3. Композиция по п. 2, отличающаяся тем, что указанная клетка выбрана из группы, состоящей из NM-H9D8, NM-H9D8-E6Q12 и NM-F9.

4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой клетку NM-H9D8.

5. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой клетку NM-H9D8(8B11).

6. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид кодирует лидерную последовательность полипептида SP-D дикого типа.

7. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид содержит SEQ ID NO: 03.

RU 2020109423 A

RU 2020109423 A

8. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид содержит SEQ ID NO: 02.

9. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид кодирует полипептид, имеющий последовательность аминокислот, содержащую SEQ ID NO: 05.

10. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид кодирует полипептид, имеющий последовательность аминокислот, содержащую SEQ ID NO: 04.

11. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид кодирует лидерную последовательность полипептида Т-клеточного рецептора (TCR) дикого типа.

12. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид содержит SEQ ID NO: 08.

13. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид содержит SEQ ID NO: 07.

14. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид кодирует полипептид, имеющий последовательность аминокислот, содержащую SEQ ID NO: 10.

15. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид кодирует полипептид, имеющий последовательность аминокислот, содержащую SEQ ID NO: 09.

16. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный полипептид SP-D содержит остаток в полиморфном положении, при этом указанный остаток выбран из группы, состоящей из Met11/31, Thr160/180, Ser 270/290 и Ala 286/306.

17. Композиция по п. 16, отличающаяся тем, что указанный полипептид SP-D содержит Met11/31.

18. Композиция по п. 16, отличающаяся тем, что указанный полипептид SP-D содержит Met11/31, Thr160/180, Ser 270/290 и Ala 286/306.

19. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный полипептид SP-D человека содержит аминокислотную последовательность с 22 по 376 положения последовательности SEQ ID NO: 04.

20. Композиция по п. 1, включающая популяцию экспрессированных полипептидов SP-D, причем каждый экспрессированный полипептид SP-D содержит углевод сложного типа, присоединенный к сайту N-гликозилирования, при этом указанная популяция имеет профиль гликозилирования, включающий следующие характеристики:

i) по меньшей мере 70% указанных углеводов сложного типа содержат коровую фукозу;

ii) по меньшей мере 10% указанных углеводов сложного типа содержат по меньшей мере один остаток сиаловой кислоты;

iii) по меньшей мере 50% указанных углеводов сложного типа содержат по меньшей мере биантенную углеводную структуру;

iv) по меньшей мере 10% указанных углеводов сложного типа содержат бисектный N-ацетилглюкозамин;

v) менее 10% указанных углеводов представляют собой структуры с высоким содержанием маннозы; и

vi) обнаруживаемое количество α2,6-связанных остатков сиаловой кислоты.

21. Композиция по п. 20, отличающаяся тем, что указанная популяция имеет профиль гликозилирования, включающий одну или более из следующих характеристик:

i) по меньшей мере 20% указанных углеводов сложного типа содержат бисектный N-ацетилглюкозамин; и

ii) по меньшей мере 85% указанных углеводов сложного типа содержат коровую фукозу.

22. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный полинуклеотид кодирует полипептид дигидрофолатредуктазу.

RU 2020109423 A

RU 2020109423 A

23. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что культивирование указанной клетки включает приведение указанной клетки в контакт с антифолатом.

24. Композиция по п. 23, отличающаяся тем, что экспрессию указанного полипептида SP-D увеличивают путем увеличения концентрации антифолата.

25. Композиция по п. 23, отличающаяся тем, что указанный антифолат содержит метотрексат.

26. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанную клетку культивируют в перфузионном биореакторе.

27. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанную клетку культивируют в непрерывной культуре.

28. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что культивирование указанной клетки включает поддержание питательной среды, имеющей pH 7,2, значение растворенного кислорода 40% и/или 20% и температуру 37°C.

29. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что содержание растворенного кислорода ниже 35%, предпочтительно 30%.

30. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что выделение экспрессированного полипептида SP-D из указанной клетки включает получение супернатанта клеток из культуральной среды, содержащей указанную клетку.

31. Раствор, содержащий популяцию рекомбинантных полипептидов сурфактантного белка D (SP-D) человека, имеющих олигомерные формы, при этом более чем приблизительно 40% указанных олигомерных форм содержат додекамеры SP-D.

32. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что указанный полипептид SP-D человека содержит аминокислотную последовательность с 22 по 376 положения SEQ ID NO: 04.

33. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что указанный полипептид SP-D содержит остаток в полиморфном положении, при этом указанный остаток выбран из группы, состоящей из Met11/31, Thr160/180, Ser 270/290 и Ala 286/306.

34. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что указанный полипептид SP-D содержит Met11/31.

35. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что указанный полипептид SP-D содержит Met11/31, Thr160/180, Ser 270/290 и Ala 286/306.

36. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что более чем приблизительно 60% указанных олигомерных форм содержат додекамеры SP-D.

37. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что более чем приблизительно 62% указанных олигомерных форм содержат додекамеры SP-D.

38. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что более чем приблизительно 64% указанных олигомерных форм содержат додекамеры SP-D.

39. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что распределение олигомерных форм SP-D измеряют, используя фракционирование в потоке под влиянием ассиметричного силового поля с анализом многоугольного рассеяния света (AF4-MALS).

40. Раствор по п. 31, отличающийся тем, что каждый полипептид SP-D содержит углевод сложного типа, присоединенный к сайту N-гликозилирования, при этом указанная популяция имеет профиль гликозилирования, включающий следующие характеристики:

i) по меньшей мере 70% указанных углеводов сложного типа содержат коровую фукозу;

ii) по меньшей мере 10% указанных углеводов сложного типа содержат по меньшей мере один остаток сиаловой кислоты;

iii) по меньшей мере 50% указанных углеводов сложного типа содержат по меньшей мере биантенную углеводную структуру;

iv) по меньшей мере 10% указанных углеводов сложного типа содержат бисектный

RU 2020109423 A

RU 2020109423 A

N-ацетилглюкозамин;

v) менее 10% указанных углеводов представляют собой структуры с высоким содержанием маннозы; и

vi) обнаруживаемое количество α2,6-связанных остатков сиаловой кислоты.

41. Раствор по п. 40, отличающийся тем, что указанная популяция имеет профиль гликозилирования, включающий одну или более из следующих характеристик:

i) по меньшей мере 20% указанных углеводов сложного типа содержат бисектный N-ацетилглюкозамин; и

ii) по меньшей мере 85% указанных углеводов сложного типа содержат коровую фукозу.

42. Композиция, содержащая полипептид сурфактантного белка D (SP-D) человека, полученная способом, включающим:

a) культивирование клетки млекопитающего, являющегося человеком, содержащей введенный полинуклеотид, кодирующий указанный полипептид SP-D, в условиях, при которых экспрессируется указанный полипептид SP-D; и

b) выделение указанного экспрессированного полипептида SP-D из указанной клетки.

43. Композиция по п. 42, отличающаяся тем, что указанная клетка происходит из клетки миелоидного лейкоза человека.

44. Композиция по п. 43, отличающаяся тем, что указанная клетка выбрана из группы, состоящей из NM-H9D8, NM-H9D8-E6Q12 и NM-F9.

45. Композиция по п. 44, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой клетку NM-H9D8.

46. Композиция по п. 42, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой клетку NM-H9D8(8B11).

RU 2020109423 A

RU 2020109423 A