

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

(21)(22) Заявка: 2013122843/10, 19.10.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
20.10.2010 US 61/394,812

(43) Дата публикации заявки: 27.11.2014 Бюл. № 33

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 20.05.2013(86) Заявка РСТ:
US 2011/056966 (19.10.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2012/054654 (26.04.2012)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городиский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):

МОРФОТЕК, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

**САСС Филип М. (US),
НИКОЛЭЙДЕС Николас (US),
ГРАССО Луиджи (US),
РУТЬЕ Эрик (US),
ГУ Вэй (US),
ЯНГ Джейсон (US),
ЯО Цзюнь (US)**(54) **ГЛИКОФОРМЫ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ФОЛАТНОГО РЕЦЕПТОРА АЛЬФА**

(57) Формула изобретения

1. Моноклональное антитело, которое специфически связывается с фолатным рецептором альфа (FRA), где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и где моноклональное антитело имеет измененную антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) по сравнению с ADCC моноклонального антитела, когда оно получено в стандартных условиях культивирования.

2. Моноклональное антитело по п. 1, где ADCC повышена.

3. Моноклональное антитело по п. 1, где ADCC понижена.

4. Моноклональное антитело по п. 2, которое имеет повышенную скорость интернализации по сравнению со скоростью интернализации моноклонального антитела, полученного в стандартных условиях культивирования.

5. Моноклональное антитело, которое специфически связывается с фолатным рецептором альфа (FRA), где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи,

выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6 или аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и где моноклональное антитело имеет измененную скорость интернализации по сравнению со скоростью интернализации моноклонального антитела, когда оно получено в стандартных условиях культивирования.

6. Моноклональное антитело по п. 5, где скорость интернализации повышена.

7. Моноклональное антитело по п. 5, где скорость интернализации понижена.

8. Моноклональное антитело, которое специфически связывается с фолатным рецептором альфа (FRA), где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и где моноклональное антитело имеет измененный профиль N-связанных нейтральных гликанов по сравнению с профилем N-связанных нейтральных гликанов моноклонального антитела, когда оно получено в стандартных условиях культивирования.

9. Моноклональное антитело по п. 8, где измененный профиль N-связанных нейтральных гликанов содержит одно или более из следующего:

- a) повышенное или пониженное количество M3N2;
- b) повышенное или пониженное количество M3N2F;
- c) повышенное количество NA2;
- d) повышенное или пониженное количество NA2F;
- e) повышенное или пониженное количество MAN5;
- f) повышенное количество NGA2;
- g) повышенное или пониженное количество NGA2F; или
- h) повышенное или пониженное количество NA2G1F.

10. Моноклональное антитело, которое специфически связывается с фолатным рецептором альфа (FRA), где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и где моноклональное антитело имеет повышенную ADCC и имеет измененный профиль N-связанных нейтральных гликанов, содержащий повышенное количество NGA2 и повышенное общее количество нефукозилированных гликоформ по сравнению с моноклональным антителом, когда оно получено в стандартных условиях культивирования.

11. Моноклональное антитело по п. 10, где антитело дополнительно имеет повышенную скорость интернализации.

12. Моноклональное антитело, которое специфически связывается с фолатным рецептором альфа (FRA), где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и где

моноклональное антитело имеет пониженную эффективность интернализации по сравнению с эффективностью интернализации моноклонального антитела, когда оно получено в стандартных условиях культивирования.

13. Моноклональное антитело по п. 12, где эффективность интернализации составляет 28 нг/мл или ниже.

14. Моноклональное антитело по п. 13, где эффективность интернализации составляет 990 нг/мл или ниже.

15. Моноклональное антитело по п. 13, где эффективность интернализации составляет 1632 нг/мл или ниже.

16. Моноклональное антитело, которое специфически связывается с фолатным рецептором альфа (FRA), где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и где моноклональное антитело имеет измененную аффинность связывания по сравнению с аффинностью связывания моноклонального антитела, когда оно получено в стандартных условиях культивирования.

17. Моноклональное антитело по п. 16, где аффинность связывания повышена.

18. Моноклональное антитело по п. 16, где аффинность связывания понижена.

19. Моноклональное антитело по п. 17, где аффинность связывания повышена на 10% или более.

20. Моноклональное антитело по п. 18, где аффинность связывания понижена на 10% или ниже.

21. Композиция, содержащая антитело по одному из пп. 1-20.

22. Композиция по п. 21, дополнительно содержащая дополнительное активное средство.

23. Клеточная культура, содержащая эукариотическую клетку-хозяин, где клетка-хозяин содержит нуклеиновые кислоты, кодирующие аминокислоту в SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5, и кодирующие аминокислотную последовательность, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, где условия культивирования клеток включают параметр, выбранный из группы, состоящей из: галактозы, пониженного давления растворенного кислорода, пониженной температуры, бутирата натрия, хлорида меди, высокой осмолярности и высокой концентрации CO₂.

24. Клеточная культура по п. 23, дополнительно содержащая антитело по одному из пп. 1-20.

25. Клеточная культура по п. 23, где эукариотическая клетка-хозяин представляет клетку CHO.

26. Клетка-хозяин, выделенная из клеточной культуры по п. 24.

27. Моноклональное антитело, которое специфически связывается с фолатным рецептором альфа (FRA), выделенное из клеточной культуры по п. 24.

28. Способ получения моноклонального антитела, которое специфически связывается с FRA, где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6

или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и где моноклональное антитело имеет измененную ADCC по сравнению с ADCC моноклонального антитела, когда оно получено в стандартных условиях культивирования, включающий стадию культивирования клетки CHO, содержащей нуклеиновые кислоты, кодирующие аминокислотную последовательность тяжелой цепи и аминокислотную последовательность легкой цепи в условиях культивирования клеток, включающих параметр, выбранный из группы, состоящей из: галактозы, пониженного давления растворенного кислорода, пониженной температуры, бутирата натрия, хлорида меди, высокой осмолярности и высокой концентрации CO₂.

29. Способ по п. 28, где ADCC повышена, и условие культивирования выбрано из пониженного давления растворенного кислорода и пониженной температуры.

30. Способ по п. 29, где антитело дополнительно имеет повышенную скорость интернализации.

31. Способ получения моноклонального антитела, которое специфически связывается с FRA, где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и где моноклональное антитело имеет измененную скорость интернализации по сравнению со скоростью интернализации моноклонального антитела, когда оно получено в стандартных условиях культивирования, включающий стадию культивирования клетки CHO, содержащей нуклеиновые кислоты, кодирующие аминокислотную последовательность тяжелой цепи и аминокислотную последовательность легкой цепи в условиях культивирования клеток, включающих параметр, выбранный из группы, состоящей из: галактозы, пониженного давления растворенного кислорода, пониженной температуры, бутирата натрия, хлорида меди, высокой осмолярности и высокой концентрации CO₂, сбора не ранее, чем 13 суток или дольше, чем 15 суток.

32. Способ по п. 31, где скорость интернализации повышена, и условие культивирования выбрано из пониженного давления растворенного кислорода или сбора не ранее, чем 13 суток или дольше, чем 15 суток.

33. Моноклональное антитело, которое специфически связывается с фолатным рецептором альфа (FRA), где моноклональное антитело содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:5 с или без С-концевого лизина, и дополнительно содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из: аминокислотной последовательности, которая на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2; аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, полученное способом по одному из пп. 28-32.

34. Способ снижения роста диспластических клеток, связанный с повышенной экспрессией FRA у индивида, нуждающегося в этом, включающий стадию введения индивиду моноклонального антитела по одному из п. 1-20, 27 или 33.

35. Способ по п. 34, где диспластические клетки представляют клетки злокачественной опухоли яичников, молочной железы, почек, колоректального рака, злокачественной опухоли эндометрия, головного мозга, фаллопиевых труб, матки или лейкемии.

36. Способ по п. 34, где индивид является человеком.

37. Способ лечения злокачественного новообразования у индивида, нуждающегося в этом, включающий стадию введения индивиду моноклонального антитела по одному из п. 1-20, 27 или 33.

38. Способ по п. 37, где злокачественное новообразование выбрано из рака яичников, молочной железы, почек, колоректального рака, рака эндометрия или головного мозга.

39. Способ детектирования клетки, которая экспрессирует FRA, включающий стадии приведения в контакт клетки с антителом по одному из п. 1-20, 27 или 33, и детектирования связывания.

40. Способ по п. 39, где клетка является диспластической клеткой.

41. Способ детектирования FRA в биологическом образце, включающий стадии приведения в контакт биологического образца с антителом по одному из п. 1-20, 27 или 33, и детектирования связывания.

RU 2013122843 A

RU 2013122843 A