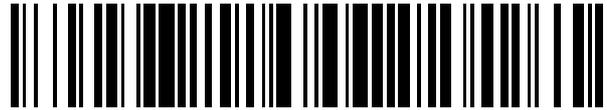


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 492 815**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE REIVINDICACIONES DE SOLICITUD DE
PATENTE EUROPEA

T1

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.1989 E 98204240 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **01.09.1999 EP 0939127**

30 Prioridad:

28.12.1988 US 290975
13.02.1989 US 310252

46 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de las reivindicaciones de la solicitud:
10.09.2014

71 Solicitantes:

PDL BIOPHARMA, INC. (100.0%)
932 Southwood Blvd.
Incline Village, NV 89451, US

72 Inventor/es:

QUEEN, CARY L. y
SELICK, HAROLD E.

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

54 Título: **Inmunoglobulinas humanizadas y su producción y uso**

ES 2 492 815 T1

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de primeras secuencias de nucleótidos que codifican regiones de marco de las cadenas ligera y pesada de Ig aceptora humana y de segundas secuencias de nucleótidos que codifican RDC de una Ig donante en la producción de polinucleótidos expresables que codifican una inmunoglobulina humanizada; inmunoglobulina que es una obtenible por un procedimiento que comprende:
- 10 (a) comparar las secuencias de aminoácidos de la región de marco o variable de las cadenas ligera y pesada de Ig donante con secuencias correspondientes de una colección de cadenas de Ig humana;
- 10 (b) seleccionar, para proporcionar marcos de cadena ligera y pesada de Ig aceptora humana, secuencias de la colección que tienen al menos el 65 % de identidad con las secuencias de marco donantes respectivas; y
- 15 (c) combinar las RDC de la Ig donante y marcos de las secuenciasceptoras seleccionadas.
- 15 2. Un procedimiento de preparación de células transfectadas que comprende transfectar células con polinucleótidos obtenibles por el uso de la reivindicación 1.
- 20 3. El uso de primeras secuencias de nucleótidos que codifican regiones estructurales de las cadenas ligera y pesada de Ig aceptora humana y segundas secuencias de nucleótidos que codifican las RDC de una Ig donante en la producción de una inmunoglobulina humanizada;
- 20 inmunoglobulina que es una obtenible por un procedimiento que comprende:
- 25 (a) comparar las secuencias de aminoácidos de la región de marco o variable de las cadenas ligera y pesada de Ig donante con secuencias correspondientes de una colección de cadenas de Ig humana;
- 25 (b) seleccionar, para proporcionar marcos de cadena ligera y pesada de Ig aceptora humana, secuencias de la colección que tienen al menos el 65 % de identidad con las secuencias de marco donantes respectivas; y
- 30 (c) combinar RDC de la Ig donante y marcos de las secuenciasceptoras seleccionadas.
- 30 4. El uso de una primera secuencia de nucleótidos que codifica una región de marco de las cadenas ligera y pesadaceptoras de Ig humana y de segundas secuencias de nucleótidos que codifican las RDC de una Ig donante en la producción de polinucleótidos expresables que codifican una inmunoglobulina humanizada;
- 35 siendo la cadena pesada de dicha inmunoglobulina humanizada una obtenible por un procedimiento que comprende:
- 35 combinar las RDC de una cadena pesada de Ig donante con el marco de una cadena pesada de Ig aceptora humana con el marco de una cadena pesada de Ig aceptora humana seleccionada de modo que la secuencia del marco de la cadena pesada de la Ig humanizada sea el 65 % o más idéntica a la secuencia del marco de la cadena pesada de la Ig donante.
- 40 5. El uso de primeras secuencias de nucleótidos que codifican regiones de marco de las cadenas ligera y pesada de Ig aceptora humana y segundas secuencias de nucleótidos que codifican las RDC de una Ig donante en la producción de una Ig humanizada;
- 45 siendo la cadena pesada de dicha Ig humanizada una obtenible por un procedimiento que comprende:
- 45 combinar las RDC de una cadena pesada de Ig donante con el marco de una cadena pesada de Ig aceptora humana seleccionada de modo que la secuencia del marco de la cadena pesada de Ig humanizada sea el 65 % o más idéntica a la secuencia del marco de la cadena pesada de Ig donante.
- 50 6. Un procedimiento de diseño de una cadena de inmunoglobulina (Ig) humanizada que tiene una o más RDC a partir de una Ig donante y una región de marco a partir de una Ig humana, comprendiendo dicho procedimiento:
- 55 comparar la secuencia de aminoácidos de la región de marco o variable de la cadena ligera o pesada de una Ig donante con secuencias correspondientes de una colección de cadenas de Ig humana; y seleccionar para proporcionar el marco de cadena ligera o pesada de la Ig humana una de las 3-5 secuencias más homólogas de la colección.
- 60 7. Un procedimiento de diseño de una cadena de inmunoglobulina humanizada que tiene una región de marco a partir de una inmunoglobulina aceptora humana y RDC a partir de una inmunoglobulina donante capaz de unirse a un antígeno, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de sustituir al menos un aminoácido del marco humano de la inmunoglobulina aceptora por un aminoácido correspondiente de la inmunoglobulina donante en una posición en la inmunoglobulina donde:
- 65 (a) el aminoácido en la región de marco humana de la inmunoglobulina aceptora es extraño para dicha posición y el aminoácido correspondiente en la inmunoglobulina donante es común para dicha posición en secuencias de inmunoglobulina humana; o

(b) el aminoácido está inmediatamente adyacente a una de las RDC; o

(c) se predice que el aminoácido es capaz de interactuar con las RDC de la inmunoglobulina humanizada.

- 5 8. Un procedimiento según la reivindicación 7, en el que la cadena de inmunoglobulina humanizada comprende además de las RDC de la inmunoglobulina donante al menos tres aminoácidos de la inmunoglobulina donante elegidos por los criterios (a), (b) o (c).
- 10 9. Un procedimiento según la reivindicación 8, en el que al menos uno de los aminoácidos sustituidos adicionales del donante se elige por el criterio (b).
- 10 10. El uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 3 en el que la inmunoglobulina humanizada tiene una afinidad por un antígeno de al menos aproximadamente 10^8 M^{-1} .
- 15 11. Un procedimiento de producción de una cadena pesada de inmunoglobulina (Ig) humanizada que comprende la etapa de combinar regiones determinantes de la complementariedad de una cadena pesada de Ig donante con un marco que es una secuencia consenso de marcos de cadenas pesadas de muchos anticuerpos humanos.
- 20 12. Una inmunoglobulina humanizada que incluye una cadena diseñada según un procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9.
- 20 13. Una inmunoglobulina humanizada obtenible por el uso de la reivindicación 3 o la reivindicación 10 cuando depende de la reivindicación 3, mediante la expresión en células transfectadas producidas por el procedimiento de la reivindicación 2, o por el procedimiento de la reivindicación 11.
- 25 14. Una inmunoglobulina humanizada obtenible por el procedimiento de la reivindicación 11.
- 25 15. Una composición que comprende una inmunoglobulina sustancialmente pura de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 que es una inmunoglobulina similar a las humanas reactiva específicamente con la proteína p55 Tac.
- 30 16. Una composición que comprende una inmunoglobulina sustancialmente pura de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 que es una inmunoglobulina similar a las humanas capaz de inhibir la unión de interleucina-2 (IL-2) humana a un receptor de IL-2 humano, preferentemente en la que la inmunoglobulina muestra una afinidad de unión por un receptor de IL-2 humano de aproximadamente 10^8 M^{-1} o más potente.
- 35 17. El uso de una inmunoglobulina humanizada de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 en la fabricación de un medicamento.
- 35 18. El uso de una composición de la reivindicación 15 o la reivindicación 16 en la fabricación de un medicamento.
- 40 19. Una inmunoglobulina humanizada de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 para usar como un producto farmacéutico.
- 40 20. Una composición de la reivindicación 15 o la reivindicación 16 para usar como un producto farmacéutico.

1	Q	V	Q	L	Q	Q	S	G	A	E	L	A	K	P	G	A	S	V	K	M								
1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V								
21	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	S	Y	R	M	H	W	V	K	Q	R								
21	S	C	K	A	S	G	G	T	F	S	R	S	A	I	I	W	V	R	Q	A								
							*			*	<hr/>																	
41	P	G	Q	G	L	E	W	I	G	Y	I	N	P	S	T	G	Y	T	E	Y								
41	P	G	Q	G	L	E	W	M	G	G	I	V	P	M	F	G	P	P	N	Y								
							*	<hr/>																				
61	N	Q	K	F	K	D	K	A	T	L	T	A	D	K	S	S	S	T	A	Y								
61	A	Q	K	F	Q	G	R	V	T	I	T	A	D	E	S	T	N	T	A	Y								
	<hr/>						*	*																				
81	M	Q	L	S	S	L	T	F	E	D	S	A	V	Y	Y	C	A	R	G									
81	M	E	L	S	S	L	R	S	E	D	T	A	F	Y	F	C	A	G	G	Y								
												*		*			*											
100	G	G	V	F	D	Y	W	G	Q	G	T	T	L	T	V	S	S											
101	G	I	Y	S	P	E	E	Y	N	G	G	L	V	T	V	S	S											
	<hr/>						*	*	*	*																		

FIG. 1.

1	Q	I	V	L	T	Q	S	P	A	I	M	S	A	S	P	G	E	K	V	T							
1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	T	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T							
21	I	T	C	S	A	S	S	S	I	S	Y	M	H	W	F	Q	Q	K	P								
21	I	T	C	R	A	S	Q	S	I	N	T	W	L	A	W	Y	Q	Q	K	P							
	<hr/>																										
40	G	T	S	P	K	L	W	I	Y	T	T	S	N	L	A	S	G	V	P	A							
41	G	K	A	P	K	L	L	M	Y	K	A	S	S	L	E	S	G	V	P	S							
							*	<hr/>																			*
60	R	F	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	S	L	T	I	S	R	M	E	A							
61	R	F	I	G	S	G	S	G	T	E	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P							
			*																								
80	E	D	A	A	T	Y	Y	C	H	Q	R	S	T	Y	P	L	T	F	G	S							
81	D	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	N	S	D	S	K	M	F	G	Q							
									<hr/>																		
100	G	T	K	L	E	L	K																				
101	G	T	K	V	E	V	K																				

FIG. 2.

10 20 30 40 50 60
 TCTAGATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGGTACCGCGGGCGGTGCACT
 M G W S W I F L L S G T A G V H
 70 80 90 100 110 120
 CTCAGGTCCAGCTTGTCCAGTCTGGGGCTGAAGTCAAGAAACCTGGCTCGAGCGTGAAGG
 S Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K
 130 140 150 160 170 180
 TCTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTACTAGCTACAGGATGCACTGGGTAAGGCAGG
 V S G K A S G Y T F T S Y R M H W V R Q
 190 200 210 220 230 240
 CCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGATATATTAATCCGTGCACTGGGTATACTGAAT
 A P G Q G L E W I G Y I N P S T G Y T E
 250 260 270 280 290 300
 ACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCAACAATTACTGCAGACGAATCCACCAATA CAGCCT
 Y N Q K F K D K A T I T A D E S T N T A
 310 320 330 340 350 360
 ACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGGGG
 Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G
 370 380 390 400 410 420
 GGGGGTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGAACCTGGTCACAGTCTCCTCAGGTGAGTCCT
 G G V F D Y W G Q G T L V T V S S
 430
 TAAACCTCTAGA

FIG. 3.

```

      10      20      30      40      50      60
TCTAGATGGAGACCGATACCGTCCTGCTATGGGTCCTGCTATGGGTCCCAGGATCAA
  M E T D T L L L W V L L L W V P G S

      70      80      90     100     110     120
CCGGAGATATTCAGATGACCCAGTCTCCATCTACCCTCTCTGCTAGCGTCGGGGATAGGG
  T G D I Q M T Q S P S T L S A S V G D R

      130     140     150     160     170     180
TCACCATAACCTGCTCTGCCAGCTCAAGTATAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGC
  V T I T C S A S S S I S Y M H W Y Q Q K

      190     200     210     220     230     240
CAGGCAAAGCTCCCAAGCTTCTAATTTATACCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTG
  P G K A P K L L I Y T T S N L A S G V P

      250     260     270     280     290     300
CTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACGGAGTTCACCGCTCACAATCAGCTCTCTGGAGC
  A R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q

      310     320     330     340     350     360
CAGATGATTTGCCCACTTATTACTGCCATCAAAGGAGTACTTACCCACTCACGTTGGGTC
  P D D F A T Y Y C H Q R S T Y P L T F G

      370     380     390     400
AGGGGACCAAGGTGGAGGTCAAACGTAAGTACACTTTTCTAGA
  Q G T K V E V K

```

FIG. 4.

A

HES12
 AGCTTCTAGATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTCCCTCCTGTCCAGGTACGGCGGGGGT
 CAGTCTCAGGTCAGCTTGTCCAGTCTGGGGCTGAACTGAAAGAACCTGGCTCGAGCGTG
 AAGGTC

HES13
 CCCAGTCGACGGATTAAATATATCCAAATCCATCCAGACCCTGTCCAGGGGCTGCCTTAG
 CCAGTGCAATCCCTGTAGCTAGTAAAGGTGTAGCCAGAGCCCTGCAGGAGACCTTCACGGCT
 CGAGCGAGG

HES14
 TATATTAATCGGTCGACTGGGTATACTGAATACAAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCAACA
 ATTACTCCAGACGAATCCACCAATACAGCCCTACATGGAACCTGAGCAGCCTGAGATCTGAG
 GACA

HES15
 ATATCGTCTAGAGGTTTTAAGGACTCACCCTGAGGAGACTGTGACCAGGGTTCTTGGGGC
 CAGTAGTCAAGAGCCCCCTCTTGCACAGTAATAGACTGGGGTGTCTCCTCAGATCTC
 AAGGCTGCT

B



FIG. 5.

A

JFD1 CAAATCTAGATGGAGACCGGATACCCCTCCCTGCTATG66TCCCTGCTATG66TCCAGGA
 TCAACCGGAGATATTCAGATGACCCAGTCTCGATCTACCCCTCTCTGCTAGCGTCCG66GAT

JFD2 ATAAATTAGAAGCTTGGGAGCTTTGGCTGGCTTCTGCTGGTACGAGTGCATGTAACTTAT
 ACTTGAGCTGGCAGAGCAGGTTATG6TGCACCTATCCCGGACGCTAGCAGAGAG

JFD3 GTCGCAAGCTTCTAATTTATAGCAGATCCAAGCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTC
 AGTGGCAGTGGATCTGGGACCGAGTTCACCTCACAATCAGCTCTCTGCAGCAGATGAT
 TTC

JFD4 TATACTAGAAAAGTGTACTTACGTTTGACCTCCACCTTGGTCCCTGACCGAAGGTGAG
 TGGGTAAGTACTCCTTTGATGGCAGTAAATAGTGGCGAAATCATCTGGCTCCAGAGAGCT
 GA

B

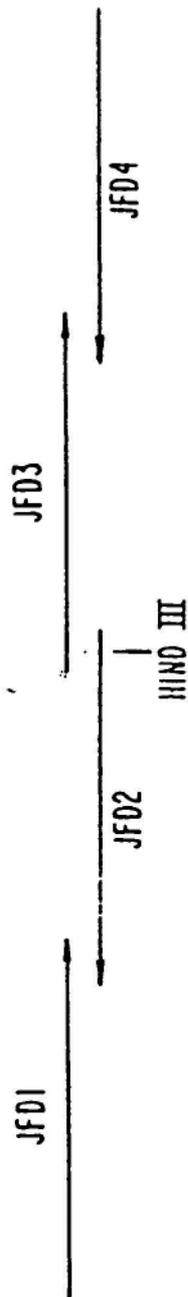


FIG. 6.

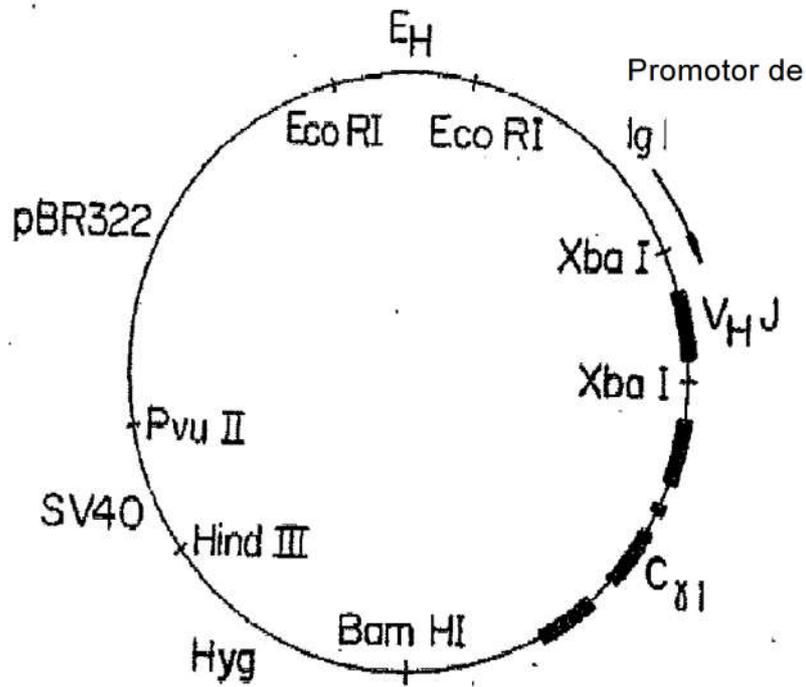


FIG. 7.

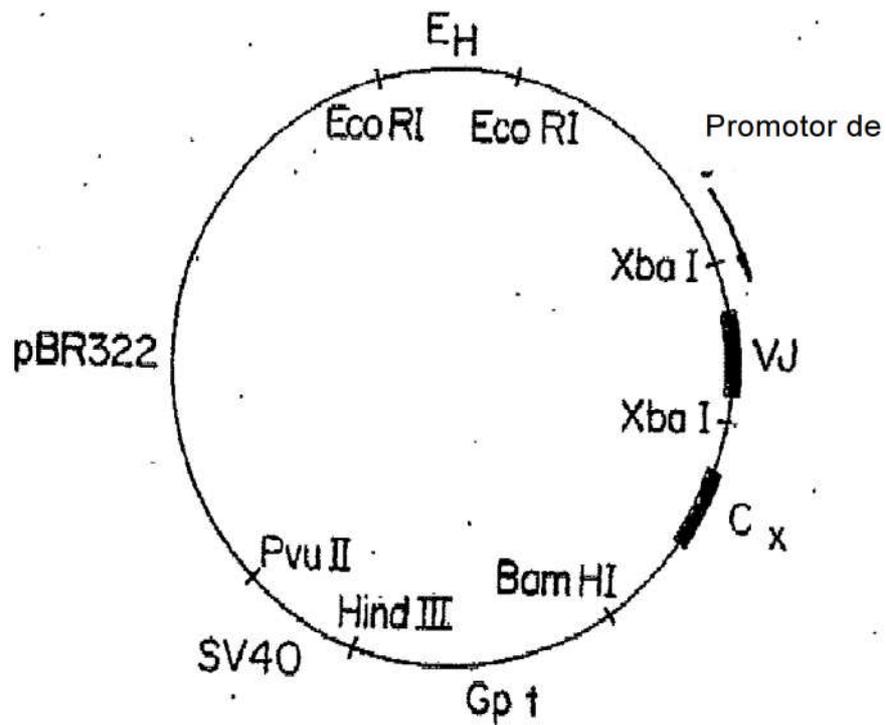


FIG. 8.

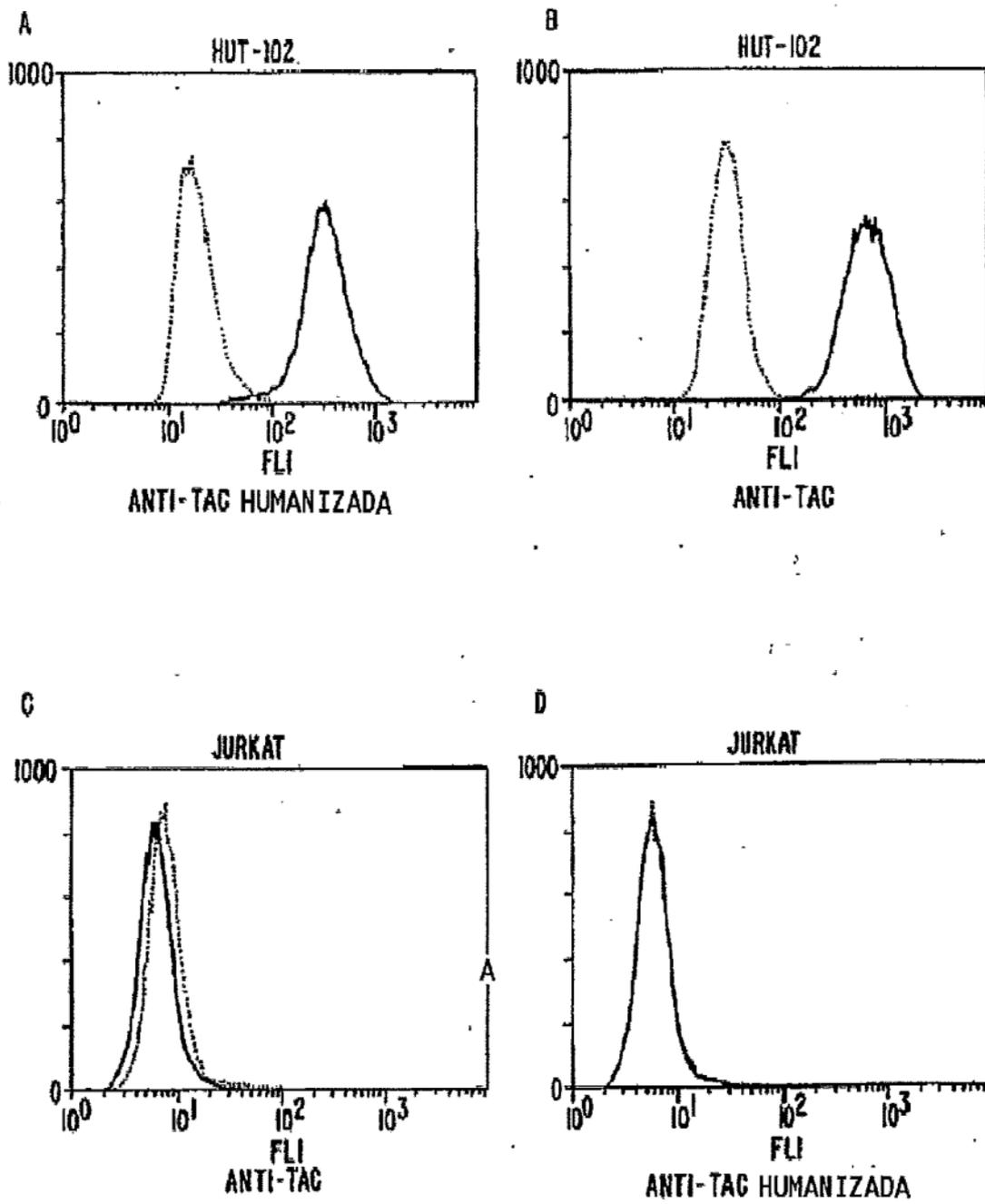


FIG. 9.

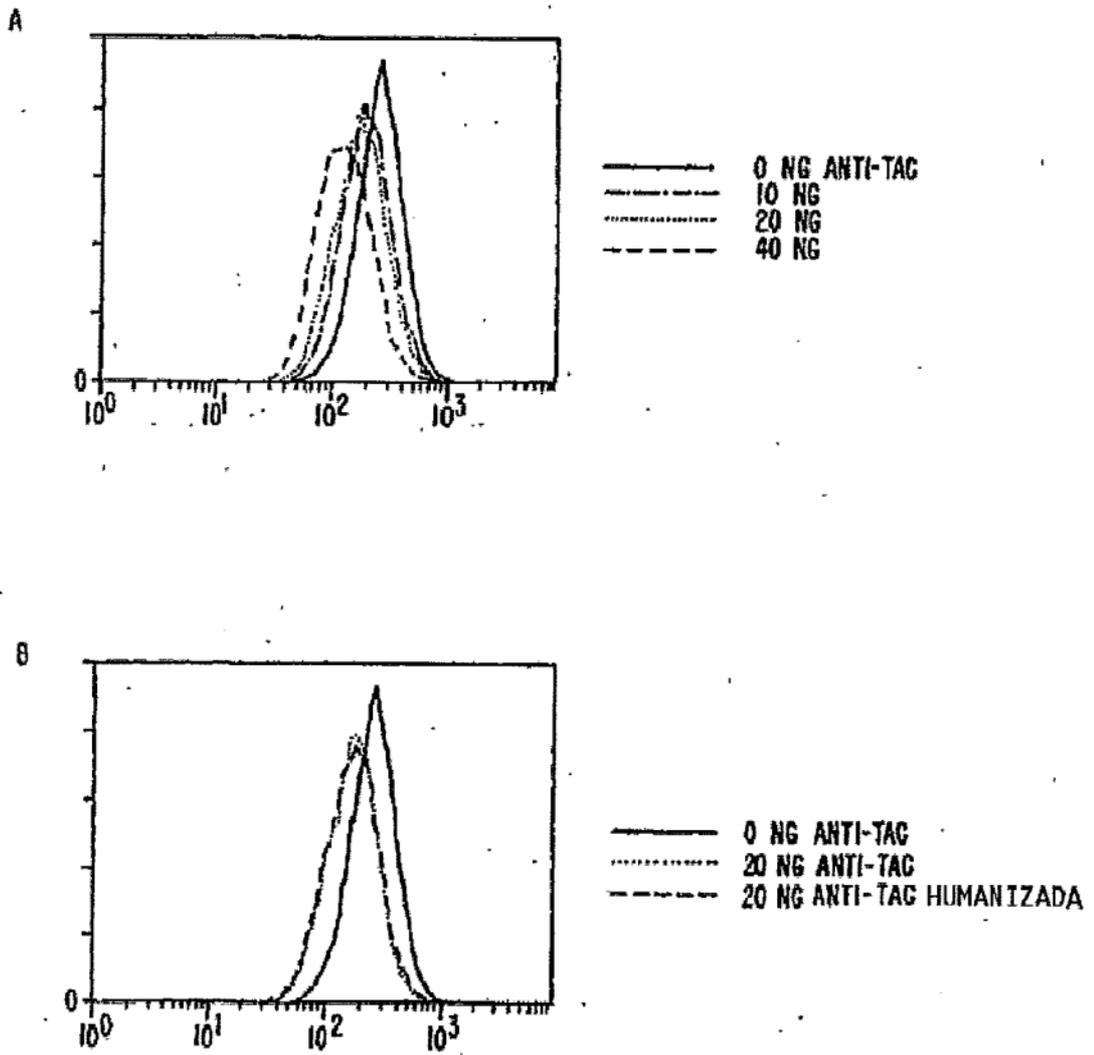


FIG. 10.