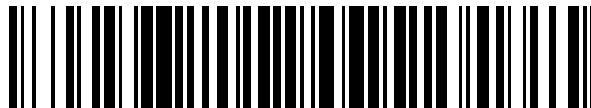


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 523 810**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/00** (2006.01)

**C07K 16/46** (2006.01)

**C12N 5/10** (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 04076439 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **17.11.2004 EP 1477497**

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:  
**01.12.2014**

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: **Método para la producción de inmunoglobulinas humanizadas**

ES 2 523 810 T1

**REIVINDICACIONES**

1. Un proceso para hacer una línea celular transfectada que comprende transfectar una célula con polinucleótidos y cultivar dicha célula transfectada, dichos polinucleótidos codifican las cadenas pesada y ligera de una inmunoglobulina humanizada, en donde dicha inmunoglobulina humanizada tiene una región marco aceptora y regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de una inmunoglobulina donante y se une a un antígeno, y además en donde dicha inmunoglobulina humanizada comprende al menos un aminoácido no de la CDR del marco de la cadena ligera de la inmunoglobulina donante que sustituye al aminoácido correspondiente en el marco aceptor, en una posición donde:
- (a) el aminoácido en el marco aceptor es raro para dicha posición y el aminoácido correspondiente en el marco donante es común para dicha posición en secuencias de inmunoglobulinas humanas; o
- (b) el aminoácido es adyacente a una de las CDR; o
- (c) se predice que el aminoácido tenga un átomo de la cadena lateral capaz de interactuar con las CDR de la inmunoglobulina humanizada.
2. Un proceso de la reivindicación 1 en donde dicha inmunoglobulina humanizada tiene una afinidad de unión por el antígeno de  $10^8 \text{ M}^{-1}$  o mayor.
3. Un proceso de la reivindicación 1 en donde dicha inmunoglobulina humanizada es un tetrámero de anticuerpo.
4. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 3 que comprende además cultivar dicha línea celular y purificar dicha inmunoglobulina humanizada a partir de la misma.
5. Una inmunoglobulina humanizada que tiene una región marco aceptora humana y regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de una inmunoglobulina donante, inmunoglobulina humanizada que se une a un antígeno y comprende al menos un aminoácido no de la CDR del marco de la cadena ligera de la inmunoglobulina donante que sustituye al aminoácido correspondiente en el marco aceptor, en una posición donde:
- (a) el aminoácido en el marco aceptor es raro para dicha posición y el aminoácido correspondiente en el marco donante es común para dicha posición en secuencias de inmunoglobulinas humanas; o
- (b) el aminoácido es adyacente a una de las CDR; o
- (c) se predice que el aminoácido tenga un átomo de la cadena lateral capaz de interactuar con las CDR de la inmunoglobulina humanizada.
6. Una inmunoglobulina humanizada de la reivindicación 5 que tiene una afinidad de unión por el antígeno de  $10^8 \text{ M}^{-1}$  o mayor.
7. Una inmunoglobulina humanizada de la reivindicación 5 o la reivindicación 6 que es un tetrámero de anticuerpo.

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
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
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
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			

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
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
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
100	G	T	K	L	E	L	K													
101	G	T	K	V	E	V	K													

FIG. 2.

```

      10      20      30      40      50      60
TCTAGATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGGTACCGCGGGCGTGCACT
  M G W S W I F L 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 C K A S G Y T F T S Y R M H W V R Q

      190     200     210     220     230     240
CCCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGATATATTAATCCGTCCACTGGGTATACTGAAT
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
ACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCAACAATTACTGCAGACGAATCCACCAATACAGCCT
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
ACATGGAAGTGGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACCGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGGGG
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
GGGGGCTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACAGTCTCCTCAGGTGAGTCCT
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
TCTAGATGGAGACGGATACCCCTCCTGCTATGGGTCCCTCCTGCTATGGGTCCCAGGATCAA
  M E T D T L L L W V L L L W V P G S

      70      80      90      100     110     120
CCGGAGATATTCAGATGACCCAGTCTCCATCTACCCTCTCTGCTAGCGTCCGGGATAGGG
  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
CAGGCAAAGCTCCAAGCTTCTAATTTATACCAGATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTG
  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
CTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCGAGTTCACCCCTCACAATCAGCTCTCTGCAGC
  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
CAGATGATTTGCCCACTTATTA CTGCCATCAAAGGAGTACTTACCCACTCACGTTCCGGTC
  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.

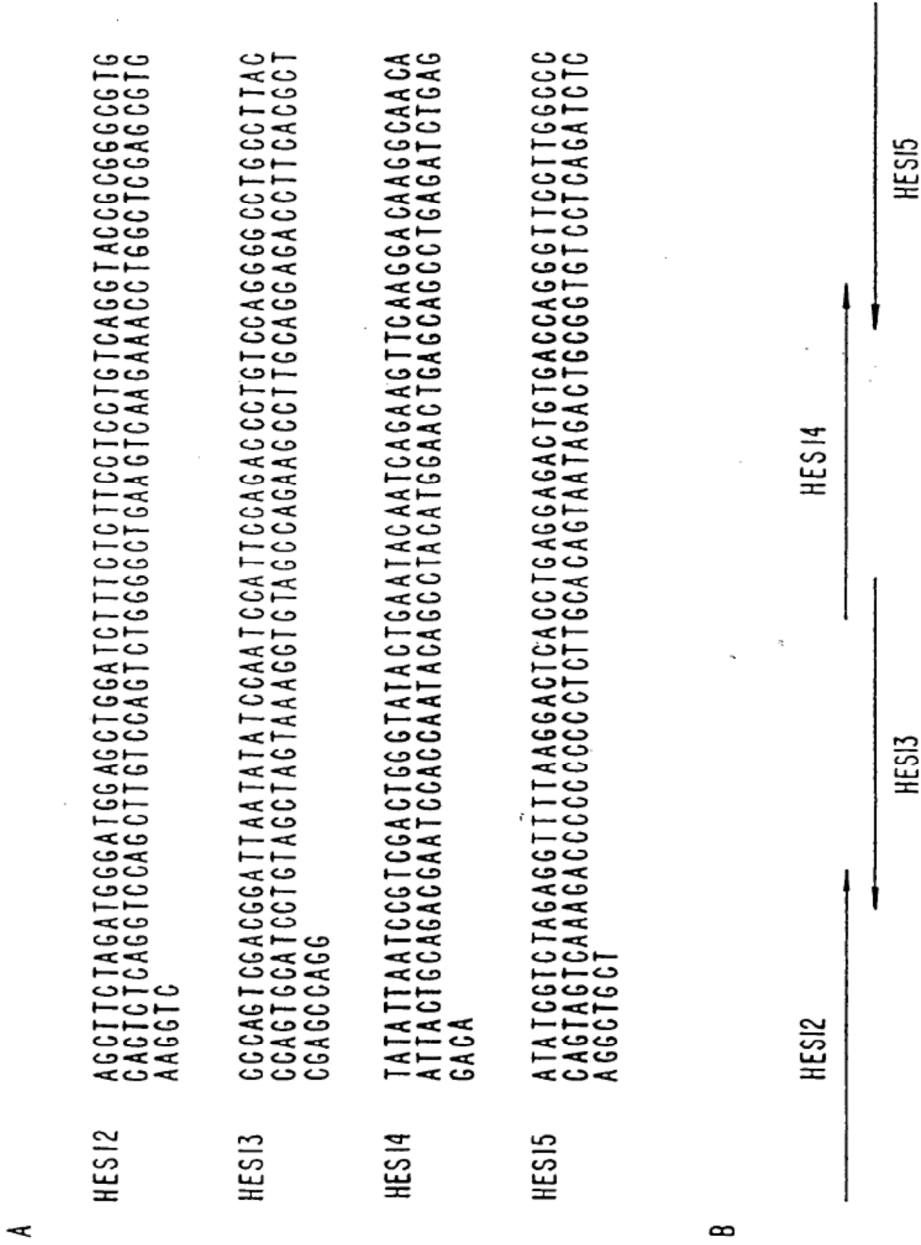


FIG.—5.

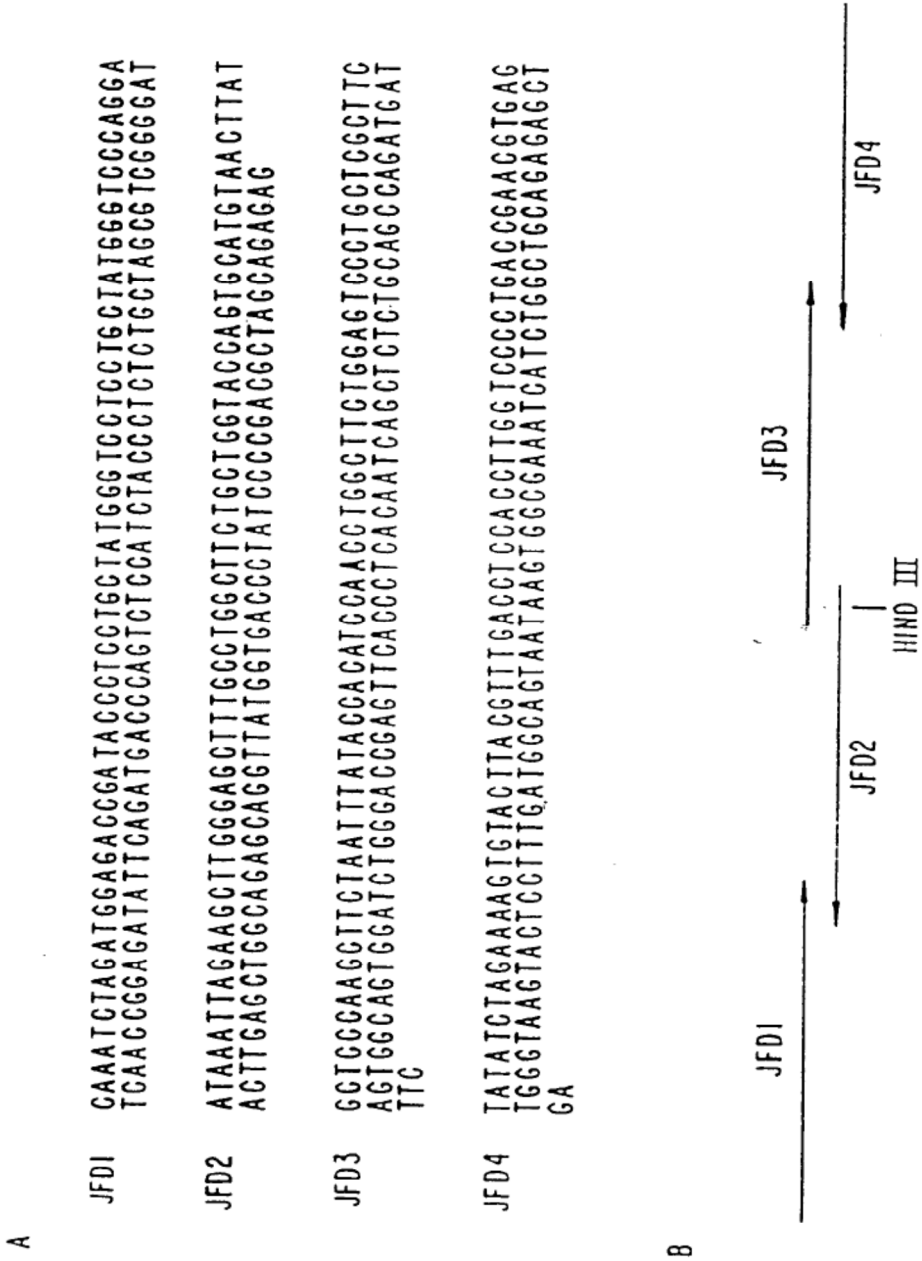


FIG. 6.

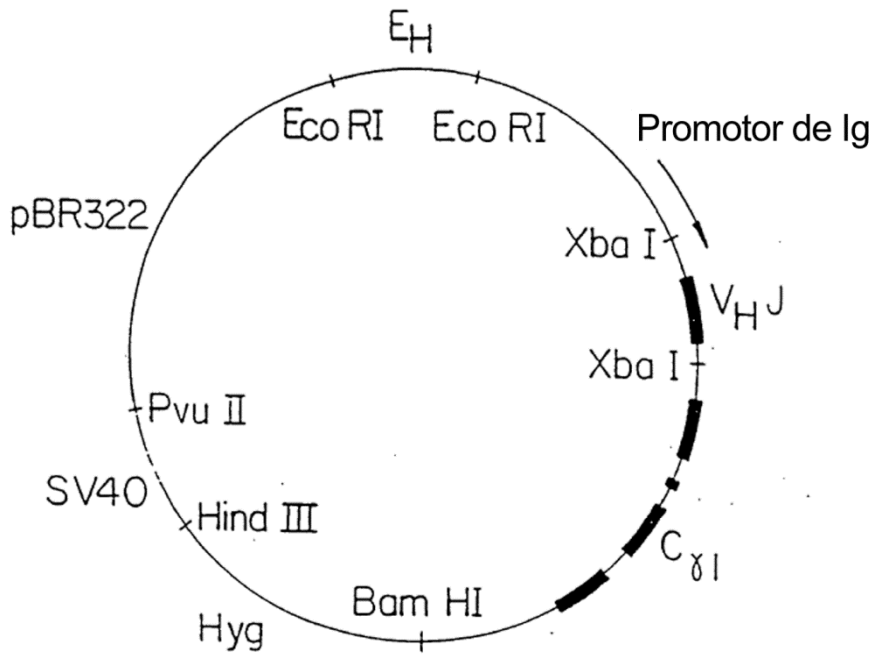


FIG. 7.

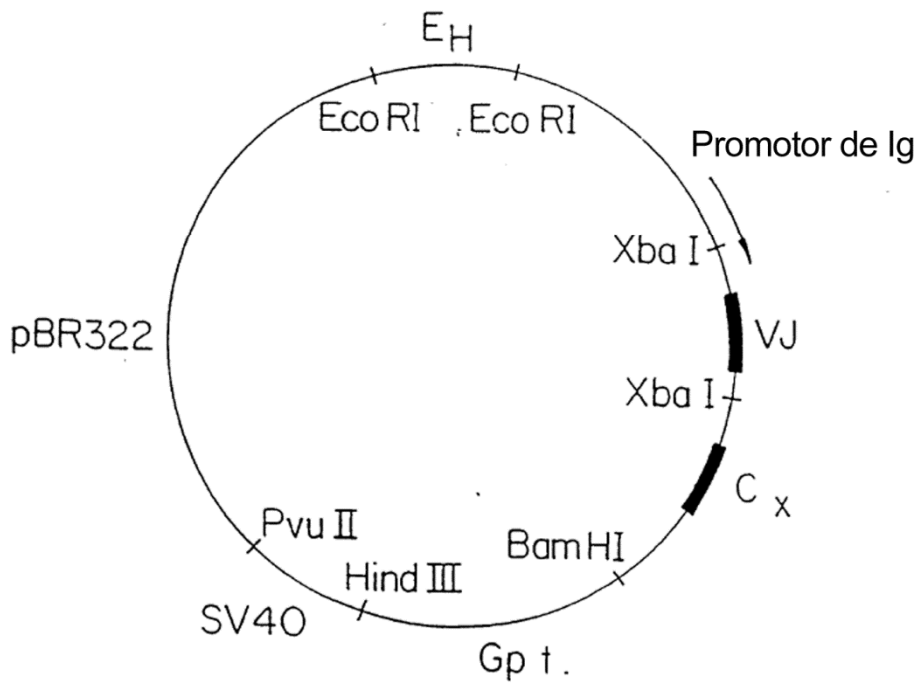


FIG. 8.



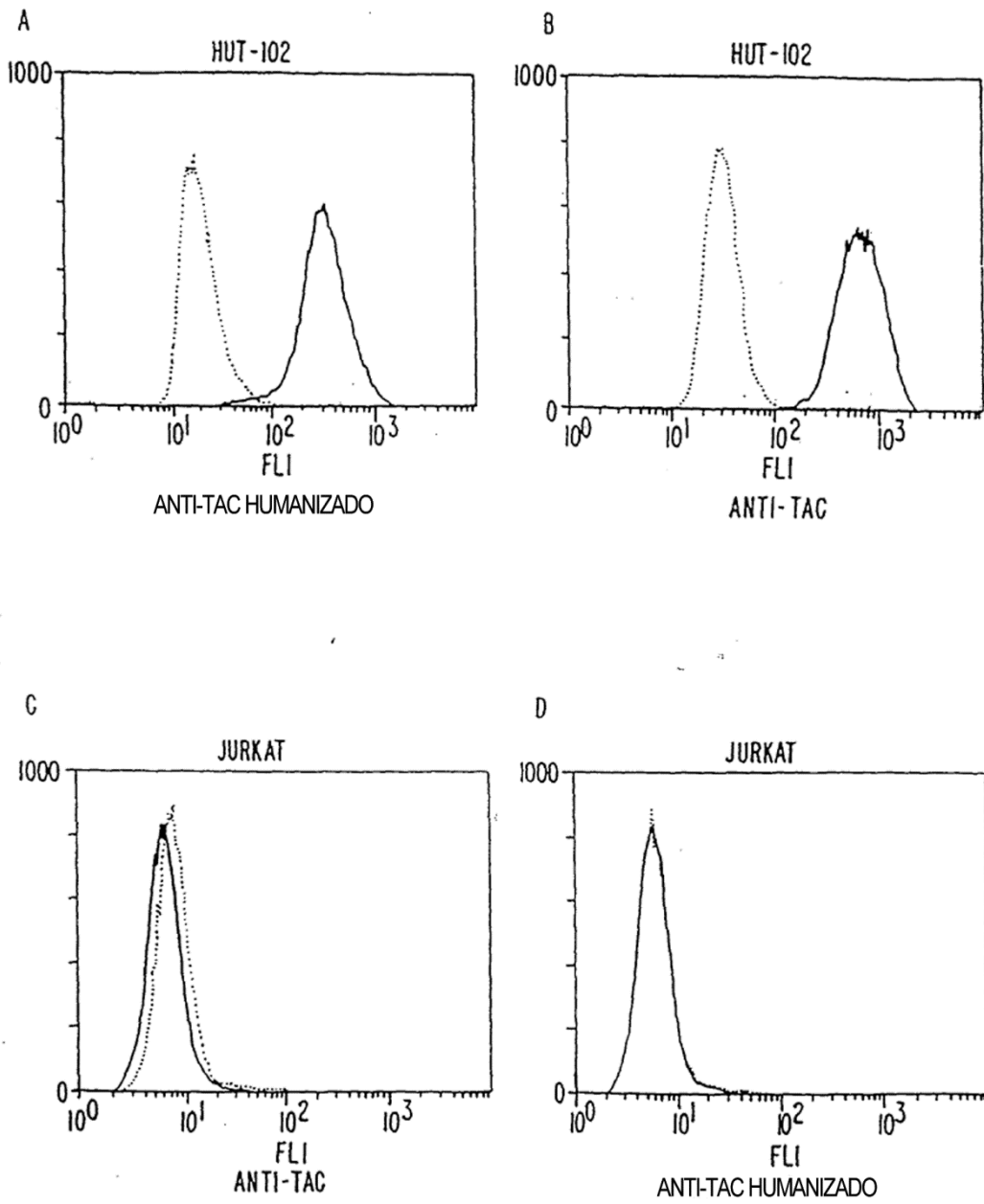


FIG. 9.

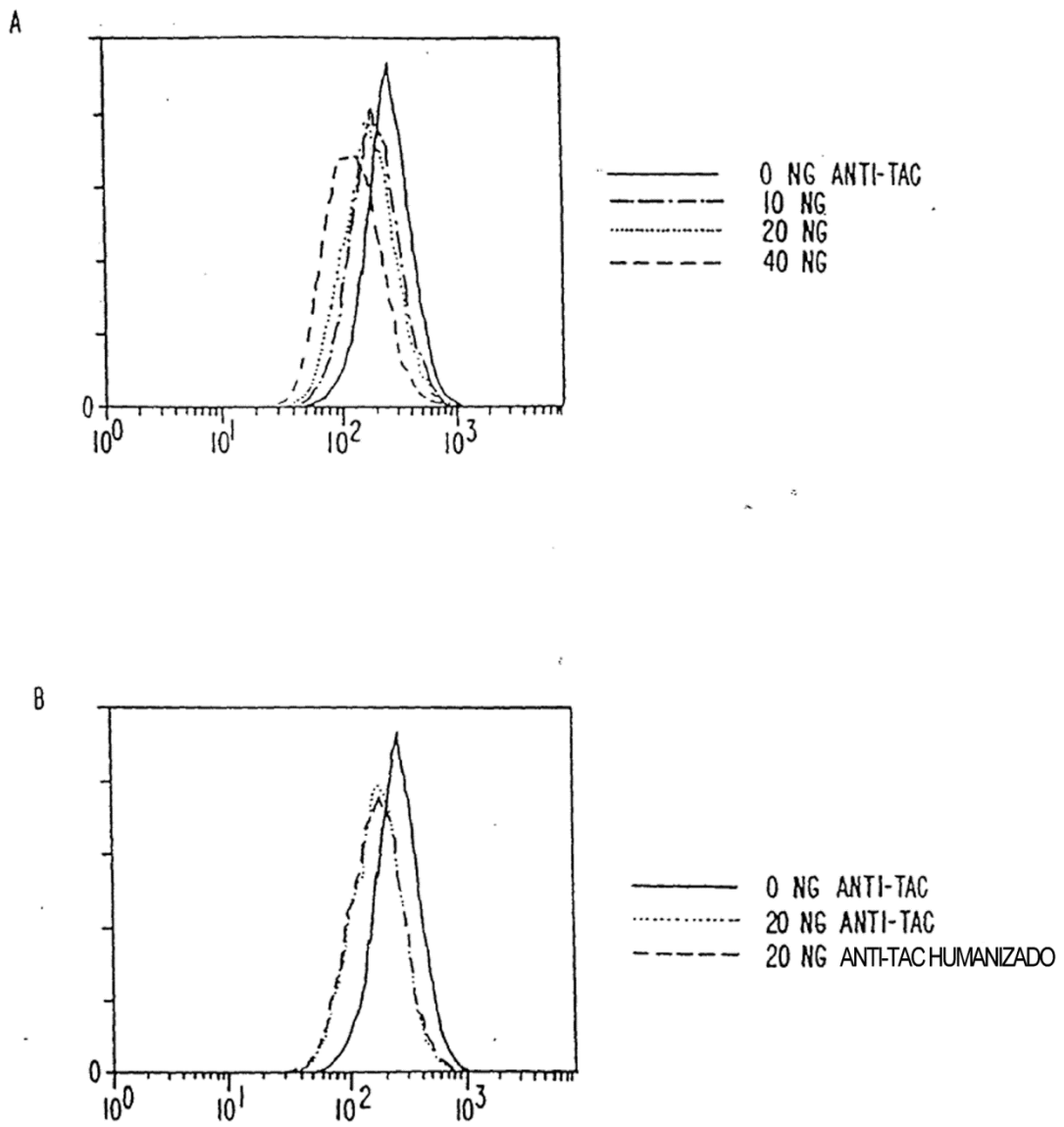


FIG. 10.