

(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 43724 B1** (51) Cl. internationale : **C07K 16/28; C07K 16/30; C07K 16/46; C07K 16/42; C07K 16/32**
- (43) Date de publication : **28.06.2023**

-
- (21) N° Dépôt : **43724**
- (22) Date de Dépôt : **20.03.2017**
- (30) Données de Priorité : **22.03.2016 EP 16161740**
- (86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/EP2017/056556 20.03.2017**
- (71) Demandeur(s) : **F. Hoffmann-La Roche AG, Grenzacherstrasse 124 4070 Basel (CH)**
- (72) Inventeur(s) : **UMANA, Pablo ; KLEIN, Christian ; STUBENRAUCH, Kay-Gunnar ; BRUENKER, Peter ; CROASDALE-WOOD, Rebecca ; SCHANZER, Juergen Michael ; GEIGER, Martina ; SULLIVAN, Eric ; PATEL, Jigar**
- (74) Mandataire : **SABA & CO., TMP**

(54) Titre : **MOLÉCULES BISPÉCIFIQUES DE CELLULES T ACTIVÉES PAR UNE PROTÉASE**

- (57) Abrégé : La présente invention concerne de manière générale de nouvelles molécules bispécifiques d'activation de cellules T activables par une protéase et de nouveaux polypeptides spécifiques d'un idiotype agissant comme des fractions de masquage. La présente invention concerne également des polynucléotides codant ces molécules bispécifiques d'activation des cellules T activables par une protéase et ces polypeptides spécifiques d'un idiotype, et des vecteurs et des cellules hôtes comprenant ces polynucléotides. L'invention concerne en outre des procédés de production des molécules bispécifiques d'activation des cellules T activables par une protéase et des polypeptides spécifiques d'un idiotype selon l'invention, et des procédés d'utilisation de ces molécules bispécifiques d'activation des cellules T activables par une protéase et des polypeptides spécifiques d'un idiotype dans le cadre du traitement d'une maladie.

Revendications

1. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase comprenant
 - (a) une première fraction de liaison à l'antigène capable de se lier spécifiquement à CD3, dans
5 laquelle la première fraction de liaison à l'antigène est un anticorps ou un fragment de celui-ci ;
 - (b) une seconde fraction de liaison à l'antigène capable de se lier spécifiquement à un antigène de cellule cible, dans laquelle la seconde fraction de liaison à l'antigène est un anticorps ou un fragment de celui-ci ; et
 - 10 (c) une fraction de masquage liée de manière covalente à la molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase par l'intermédiaire d'un lien clivable par une protéase, dans laquelle la fraction de masquage est capable de se lier spécifiquement à l'idiotype de la première ou de la seconde fraction de liaison à l'antigène cachant ainsi de manière réversible la première ou la seconde fraction de liaison à l'antigène, dans laquelle
15 la fraction de masquage est un scFv anti-idiotypique.
2. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon la revendication 1, dans laquelle la fraction de masquage est liée de manière covalente à la première fraction de liaison à l'antigène et cache de manière réversible la première fraction de liaison à l'antigène.
- 20 3. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle la fraction de masquage est liée de manière covalente à la région variable de chaîne lourde de la première fraction de liaison à l'antigène.
4. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans laquelle la seconde fraction de liaison à
25 l'antigène est capable de se lier spécifiquement à un antigène de cellule cible choisi dans le groupe constitué par FolR1, HER1, HER2 et la mésothéline.
5. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle la première et la seconde fraction de liaison à l'antigène sont fusionnées l'une à l'autre, éventuellement par le biais d'un lien
30 peptidique.

6. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, comprenant en outre un domaine Fc composé d'une première et d'une seconde sous-unité capables d'une association stable.
7. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon la
5 revendication 6, dans laquelle le domaine Fc est un domaine Fc d'IgG₁ ou d'IgG₄, particulièrement d'IgG₁ ou d'IgG₄.
8. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une quelconque des revendications 6 ou 7, dans laquelle le domaine Fc présente une affinité de liaison à un récepteur Fc réduite et/ou une fonction effectrice réduite, par comparaison avec
10 un domaine Fc d'IgG₁ native.
9. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, dans laquelle la fraction de masquage comprend une région variable de chaîne lourde comprenant :
 - (a) une séquence d'acides aminés de région déterminant la complémentarité de chaîne
15 lourde CDR-H1 de SYGVS (SEQ ID NO : 26) ;
 - (b) une séquence d'acides aminés de CDR-H2 de IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO : 27) ;
 - (c) une séquence d'acides aminés de CDR-H3 de GITTVVDDYYAMDY (SEQ ID NO : 28) ; et une région variable de chaîne légère comprenant :
 - 20 (d) une séquence d'acides aminés de chaîne légère (CDR-L)1 de RASENIDSYLA (SEQ ID NO : 29) ;
 - (e) une séquence d'acides aminés de CDR-L2 de AATFLAD (SEQ ID NO : 30) ; et
 - (f) une séquence d'acides aminés de CDR-L3 de QHYYSTPYT (SEQ ID NO : 31).
10. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une
25 quelconque des revendications 1 à 9, dans laquelle le lieu clivable par une protéase comprend au moins une séquence de reconnaissance de protéase.
11. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon la revendication 10, dans laquelle le lieu clivable par une protéase comprend la séquence de reconnaissance de protéase RQARVVNG (SEQ ID NO : 36).
- 30 12. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une

quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle la première fraction de liaison à l'antigène est capable de se lier spécifiquement à CD3 et comprend une région variable de chaîne lourde comprenant :

- 5 a) une séquence d'acides aminés de région déterminant la complémentarité de chaîne lourde CDR-H1 de TYAMN (SEQ ID NO : 44) ;
- b) une séquence d'acides aminés de CDR-H2 de RIRSKYNNYATYYADSVKG (SEQ ID NO : 45) ; et
- c) une séquence d'acides aminés de CDR-H3 de HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO : 46) ; et une région variable de chaîne légère comprenant :
- 10 d) une séquence d'acides aminés de chaîne légère (CDR-L)1 de GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO : 17) ;
- e) une séquence d'acides aminés de CDR-L2 de GTNKRAP (SEQ ID NO : 18) ; et
- f) une séquence d'acides aminés de CDR-L3 de ALWYSNLWV (SEQ ID NO : 19).

13. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une
15 quelconque des revendications 1 à 12, dans laquelle la première fraction de liaison à l'antigène est capable de se lier spécifiquement à CD3 et comprend une région variable de chaîne lourde comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 43 et une région variable de chaîne légère comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO : 55.

14. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une
20 quelconque des revendications 1 à 13, dans laquelle la seconde fraction de liaison à l'antigène est capable de se lier spécifiquement à FoIR1 et comprend une région variable de chaîne lourde comprenant :

- a) une séquence d'acides aminés de région déterminant la complémentarité de chaîne
lourde CDR-H1 de NAWMS (SEQ ID NO : 14) ;
- 25 b) une séquence d'acides aminés de CDR-H2 de RIKSKTDGGTTDYAAPVKG (SEQ ID NO : 15) ; et
- c) une séquence d'acides aminés de CDR-H3 de PWFWSWYDY (SEQ ID NO : 16) ; et une région variable de chaîne légère comprenant :
- d) une séquence d'acides aminés de chaîne légère (CDR-L)1 de
30 GSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO : 17) ;
- e) une séquence d'acides aminés de CDR-L2 de GTNKRAP (SEQ ID NO : 18) ; et
- f) une séquence d'acides aminés de CDR-L3 de ALWYSNLWV

(SEQ ID NO : 19).

15. Polypeptide spécifique d'un idiotype pour cacher de manière réversible un site de liaison à l'antigène anti-CD3 d'une molécule, dans lequel le polypeptide spécifique d'un idiotype est un scFv anti-idiotype, dans lequel le polypeptide spécifique d'un idiotype est lié de manière covalente à la molécule par l'intermédiaire d'un lieu peptidique.
- 5
16. Polypeptide spécifique d'un idiotype selon la revendication 15, dans lequel le lieu est un lieu clivable par une protéase.
17. Polypeptide spécifique d'un idiotype selon la revendication 15 ou selon la revendication 16, dans lequel le lieu peptidique comprend
- 10 au moins un site de reconnaissance de protéase.
18. Polypeptide spécifique d'un idiotype selon la revendication 17, dans lequel le lieu clivable par une protéase comprend la séquence de reconnaissance de protéase **RQARVVNG** (SEQ ID NO : 36).
19. Polypeptide spécifique d'un idiotype selon l'une quelconque des revendications 17 ou 18, dans lequel la molécule est une molécule bispécifique d'activation de cellules T.
- 15
20. Polypeptide spécifique d'un idiotype selon l'une quelconque des revendications 15 à 19, comprenant une région variable de chaîne lourde comprenant :
- (a) une séquence d'acides aminés de région déterminant la complémentarité de chaîne lourde CDR-H1 de **SYGVS** (SEQ ID NO : 26) ;
- 20 (b) une séquence d'acides aminés de CDR-H2 de **IIWGDGSTNYHSALIS** (SEQ ID NO : 27) ;
- (c) une séquence d'acides aminés de CDR-H3 de **GITTVVDDYYAMDY** (SEQ ID NO : 28) ; et une région variable de chaîne légère comprenant :
- (d) une séquence d'acides aminés de chaîne légère (CDR-L)1 de **RASENIDSYLA**
- 25 (SEQ ID NO : 29) ;
- (e) une séquence d'acides aminés de CDR-L2 de **AATFLAD** (SEQ ID NO : 30) ; et
- (f) une séquence d'acides aminés de CDR-L3 de **QHYYSTPYT** (SEQ ID NO : 31).
21. Composition pharmaceutique comprenant la molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une quelconque des revendications 1 à 14 ou

- le polypeptide spécifique d'un idiotype selon l'une quelconque des revendications 15 à 20 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.
22. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, polypeptide spécifique d'un idiotype selon l'une
5 quelconque des revendications 15 à 20 ou composition pharmaceutique selon la revendication 21 pour une utilisation comme médicament.
23. Molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase pour une utilisation selon la revendication 22, dans laquelle le médicament est pour le traitement ou le ralentissement de la progression d'un cancer, le traitement ou le ralentissement de la
10 progression d'une maladie immunitaire, ou l'amélioration ou la stimulation d'une réponse ou d'une fonction immunitaire chez un individu.
24. Polynucléotide isolé codant pour la molécule de liaison à l'antigène bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase selon l'une quelconque des revendications 1 à 14 ou le polypeptide spécifique d'un idiotype selon l'une quelconque
15 des revendications 15 à 20.
25. Vecteur, en particulier vecteur d'expression, comprenant le polynucléotide selon la revendication 24.
26. Cellule hôte comprenant le polynucléotide selon la revendication 24 ou le vecteur selon la revendication 25.
- 20 27. Procédé de production d'une molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase ou d'un polypeptide spécifique d'un idiotype, comprenant les étapes de a) culture de la cellule hôte selon la revendication 26 dans des conditions appropriées pour l'expression de la molécule bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase ou du polypeptide spécifique d'un idiotype et b) récupération de la molécule
25 bispécifique d'activation de cellules T activable par une protéase ou du polypeptide spécifique d'un idiotype.