

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045535**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента
2023.12.01
- (21) Номер заявки
202191352
- (22) Дата подачи заявки
2019.11.13
- (51) Int. Cl. *C12N 15/13* (2006.01)
C12P 21/08 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) **КОНТРОЛЬ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ-МЕТАЛЛОВ ВО ВРЕМЯ
ПРОДУКЦИИ АНТИТЕЛ К CD38**

- (31) **62/760,782**
- (32) **2018.11.13**
- (33) **US**
- (43) **2021.08.11**
- (86) **PCT/IB2019/059766**
- (87) **WO 2020/100073 2020.05.22**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)
- (72) Изобретатель:
**Лармор Николь, Раманатхан
Баласубраманиан, Йиджер Ричард
(US)**
- (74) Представитель:
**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Кузнецова Т.В.,
Соколов Р.А. (RU)**
- (56) US-B2-9550826
US-A1-20120276631
US-A1-20090076249

-
- (57) Изобретение относится к способам контроля содержания микроэлементов-металлов в процессе продукции антител к CD38, лекарственных веществ и лекарственных препаратов, выработанных с использованием этих способов, и способам применения полученных лекарственных веществ и лекарственных препаратов.

045535
B1

045535
B1

Перекрестные ссылки на смежные заявки

Настоящая заявка испрашивает преимущество по предварительной заявке на патент США № 62/760782, поданной 13 ноября 2018 г., содержание которой полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

Область изобретения

Описание относится к способам контроля содержания микроэлементов-металлов в процессе продукции антител к CD38, лекарственных веществ и лекарственных препаратов, выработанных с использованием этих способов, и способам применения полученных лекарственных веществ и лекарственных препаратов.

Перечень последовательностей

Данная заявка содержит перечень последовательностей, представленных через EFS-Web, все содержание которого полностью включено в данный документ посредством ссылки. Текстовый файл ASCII, созданный 2 ноября 2018 г., назван JBI6023 WOPCT_ST25.txt и имеет размер 91 килобайт.

Предпосылки создания изобретения

За последние несколько десятков лет много исследований были сосредоточены на продукции рекомбинантных белков, например моноклональных антител из клеточной культуры. Хотя для такой культуры использовали среды, содержащие сыворотку или гидролизаты, для сведения к минимуму вариаций компонентов среды от партии к партии были разработаны среды с определенным химическим составом (Luo and Chen, *Biotechnology and Bioengineering*, 97(6):1654-59, 2007). Улучшенное понимание культуры клеток позволило перейти к использованию среды с определенным химическим составом без ущерба для качества продукта при сохранении относительно высокой жизнеспособности.

N-гликозилирование в процессе продукции антител может опосредовать их антигенность, скорость выведения *in vivo*, стабильность, а также опосредованные Fc эффекторные функции и может зависеть от условий культивирования клеток. Таким образом, существует потребность в разработке способов, способных обеспечить предсказуемые профили гликозилирования терапевтических антител, полученных из клеточной культуры в среде с определенным химическим составом.

Краткое описание изобретения

В описании предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 7 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 частей на миллиард (ч./млрд) или менее марганца (Mn); и

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, приготовленной на этапе а), посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит культивирование клетки-хозяина, экспрессирующей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в условиях продукции антитела к CD38; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 посредством контроля концентрации Mn в культуральной среде во время биосинтеза антитела к CD38 и регулирования концентрации Mn в культуральной среде во время биосинтеза антитела к CD38 так, чтобы она составляла около 8,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mn;

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, приготовленной на этапе а), посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%; и

составляется композиция антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показана корреляция между процентным содержанием олигосахаридов G0F (G0F %) и вычисленной в среде из сухого порошка (DPM) концентрацией марганца (Mn) в различных производственных партиях препарата DARZALEX® (даратумумаб). Ось Y: концентрация Mn, частей на миллиард (ч./млрд); ось X: G0F %.

На фиг. 2 показана корреляция между процентным содержанием олигосахарида G1F (G1F %) и вычисленной в DPM концентрацией M_n в различных производственных партиях препарата DARZALEX® (даратумумаб). Ось Y: концентрация M_n (ч./млрд); ось X: G1F %.

На фиг. 3 показано G0F % по сравнению с концентрацией M_n, вычисленной в DPM компонентов среды биореактора, в отношении не соответствующих спецификации (OOS), не соответствующих предыдущим данным (OOT) и успешно прошедших испытание партий препарата DARZALEX® (даратумумаб).

На фиг. 4 показано G1F % по сравнению с концентрацией M_n, вычисленной в DPM компонентов среды биореактора, в отношении OOS-партий, OOT-партий и успешно прошедших испытание партий препарата DARZALEX® (даратумумаб).

На фиг. 5 показано G1F % (обозначенное на фигуре как % G1F) и концентрация M_n в различных производственных партиях препарата DARZALEX® (даратумумаб) с течением времени.

На фиг. 6 показана общая концентрация M_n (ч./млрд) до, во время и после производства партии OOS/OOT.

Подробное описание

Все публикации, включая без ограничений патенты и заявки на патенты, цитируемые в данном описании, включены в настоящий документ путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

Следует понимать, что применяемые в настоящем документе термины предназначены только для описания конкретных вариантов осуществления и не имеют ограничительного характера. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют общепринятое значение, понятное любому специалисту в области, к которой относится изобретение.

В настоящем документе описаны иллюстративные способы и материалы, хотя при практическом осуществлении для проверки настоящего изобретения могут быть использованы любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в настоящем документе. При описании и изложении формулы настоящего изобретения будут применяться следующие термины.

Определения.

При использовании в этом описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают и множественное число, если содержание текста четко не указывает на иное. Так, например, ссылка на "клетку" включает в себя комбинацию двух или более клеток и т.п.

Термин "около" означает "в пределах приемлемого диапазона ошибки" для конкретного значения, определенного обычным специалистом в данной области, причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом измерено или определено это значение, т.е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других разделах настоящего описания в контексте конкретного анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин "около" означает "в пределах одного среднеквадратичного отклонения" в соответствии с практикой, принятой в данной области, или "в диапазоне до 5%" в зависимости от того, что больше.

Термин "антитела" относится к молекулам иммуноглобулина, имеющим две тяжелые цепи (HC) и две легкие цепи (LC), соединенные дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи, разделенной на область CH1, шарнирную область и области CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (VL) и константной области легкой цепи (CL). VH и VL можно дополнительно подразделить на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), между которыми располагаются каркасные области (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех сегментов FR, расположенных в направлении от аминоконца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Антитела включают в себя моноклональные антитела, включая мышинные, человеческие, гуманизированные и химерные антитела, биспецифические или мультиспецифические антитела. В зависимости от аминокислотной последовательности константной области тяжелой цепи иммуноглобулина могут относиться к пяти основным классам: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изоформы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов можно отнести к одному из двух четко отличающихся типов, а именно каппа (κ) и лямбда (λ).

Термин "антигенсвязывающий фрагмент" относится к части молекулы иммуноглобулина, которая сохраняет антигенсвязывающие свойства родительского полноразмерного антитела. Примерами антигенсвязывающих фрагментов являются определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) 1, 2 и/или 3, определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) 1, 2 и/или 3, VH, VL, VH и VL, фрагменты Fab, F(ab')₂, Fd и Fv, а также доменные антитела (dAb), состоящие либо из одного домена VH, либо из одного домена VL. Домены VH и VL могут быть связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL соединяются в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются в виде отдельных цепей с образованием одновалентного антигенсвязывающего

вающего сайта, например одноцепочечного Fv (scFv) или диатела; они описаны, например, в международной патентной публикации № WO 1998/44001, международной патентной публикации № WO 1988/01649; межд. публ. пат. № WO 1994/13804; межд. публ. пат. № WO 1992/01047.

Термин "биоаналог" (одобренного препарата сравнения/биологического лекарственного средства) относится к биологическому препарату, который отличается высокой степенью подобия с препаратом сравнения, несмотря на незначительные различия в клинически неактивных компонентах, без клинически значимых различий между биоаналогом и препаратом сравнения с точки зрения безопасности, чистоты и активности на основании данных, полученных в (а) аналитических исследованиях, которые демонстрируют, что биологический препарат очень похож на препарат сравнения, несмотря на незначительные различия в клинически неактивных компонентах; (b) исследованиях на животных (включая оценку токсичности); и/или (с) клиническом(их) исследовании или исследованиях (включая оценку иммуногенности и фармакокинетики или фармакодинамики), которые достаточны для демонстрации безопасности, чистоты и активности при одном или более подходящих условиях применения, для которых препарат сравнения лицензирован и предназначен для использования, и для которых необходимо найти лицензирование на биоаналог. Биоаналог может представлять собой взаимозаменяемый препарат, который может быть заменен на препарат сравнения в аптеке без участия назначающего препарат медицинского работника. Для соответствия дополнительному стандарту "взаимозаменяемости" следует ожидать, что биоаналог будет обеспечивать тот же клинический результат, что и препарат сравнения, у любого конкретного пациента, и если биоаналог вводят субъекту более одного раза, риск с точки зрения безопасности или снижения эффективности при чередовании или переключении между применением биоаналога и препарата сравнения не превышает риск применения препарата сравнения без такого чередования или переключения. При применении биоаналога в предлагаемых условиях реализуются механизмы действия, аналогичные по виду и степени механизмам, известным в отношении препарата сравнения. Условие или условия применения, предписанные, рекомендуемые или предлагаемые при маркировке, предложенной для биоаналога, были ранее одобрены для препарата сравнения. Способ введения, дозированная форма и/или дозировка биоаналога являются такими же, как у препарата сравнения, и биоаналог производят, обрабатывают, упаковывают или хранят в помещении, соответствующем стандартам, разработанным для обеспечения того, чтобы биоаналог продолжал быть безопасным, чистым и активным. Биоаналог может включать в себя незначительные модификации аминокислотной последовательности по сравнению с препаратом сравнения, таким как усечение n- или C-концевых групп, которое, как ожидается, не изменит характеристики биоаналога. Препарат сравнения может быть одобрен по меньшей мере в США, Европе или Японии.

Термин "CD38" относится к белку кластера дифференциации 38, гликопротеину, экспрессируемому на иммунных клетках, включая плазмоциты, естественные клетки-киллеры и субпопуляции В- и Т-клеток.

Термины "клеточная культуральная среда" и "культуральная среда" относятся к раствору, содержащему компоненты или питательные вещества, которые питают растущие клетки млекопитающих. Как правило, питательные вещества включают незаменимые и заменимые аминокислоты, витамины, источники энергии, липиды и микроэлементы, необходимые клетке для минимального роста и/или выживания. Такой раствор может также содержать дополнительные питательные вещества или добавочные компоненты, которые усиливают рост и/или выживание до уровня выше минимальной скорости, включая гормоны и/или другие факторы роста, в частности ионы (такие как натрий, хлорид, кальций, магний и фосфат), буферы, витамины, нуклеозиды или нуклеотиды, микроэлементы (неорганические соединения обычно присутствуют в очень низких конечных концентрациях), неорганические соединения, присутствующие в высоких конечных концентрациях (например, железо), аминокислоты, липиды и/или глюкозу или другой источник энергии.

Термин "Определяющие комплементарность области (CDR)" означает области антител, которые связывают антиген. Существуют три CDR в области VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три CDR в области VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3). CDR можно определить с помощью различных схем, например, по Кабат (Wu et al. (1970), *J. Exp. Med.*, 132:211-50) (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), Chothia (Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196:901-17, 1987), IMGT (Lefranc et al., *Dev. Comp. Immunol.*, 27:55-77, 2003) и AbM (Martin and Thornton, *J. Vmol. Biol.*, 263:800-15, 1996). Описано соответствие между различными разграничениями и нумерацией переменных областей (см., например, Lefranc et al., *Dev. Comp. Immunol.*, 27:55-77, 2003; Honegger and Pluckthun, *J. Mol. Biol.*, 309:657-70, 2001; база данных International ImmunoGeneTics (IMGT); веб-ресурсы, [http://www_imgt_org](http://www.imgt.org)). Для разметки CDR можно использовать доступные программы, такие как abYsis от UCL Business PLC. Используемые в настоящем документе термины "CDR", "HCDR1", "HCDR2", "HCDR3", "LCDR1", "LCDR2" и "LCDR3" включают в себя CDR, определенные любым из способов, описанных выше, по Кабат, Чотиа, IMGT или AbM, если в описании явным образом не указано иное.

Переходные термины "содержащий", "состоящий по существу из" и "состоящий из" предназначены для обозначения их по существу общепринятых патентных значений; т.е. (i) термин "содержащий", который является синонимом терминам "включающий", "содержащий" или "характеризующийся", является

включающим или неограниченным и не исключает дополнительные, неуказанные элементы или стадии способа; (ii) "состоящий из" исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанный в формуле изобретения; и (iii) "состоящий по существу из" ограничивает объем формулы изобретения конкретными материалами или стадиями "и теми, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые характеристики" заявленного изобретения. Варианты осуществления, описанные в отношении фразы "содержащий" (или его эквивалентов), обеспечивают такое же значение, как варианты осуществления, описанные независимо друг от друга в отношении фразы "состоящий из" и "состоящий по существу из".

Термины "культура", "культивирование", "культивированный" и "клеточная культура" относятся к популяции клеток, которая суспендирована в культуральной среде в условиях, приемлемых для выживания и/или роста популяции клеток. Клеточная культура включает в себя подпитываемую клеточную культуру и перфузионную клеточную культуру.

Термин "лекарственное вещество", или "DS", относится к любому веществу или смеси веществ, которые предназначены для применения при производстве лекарственного (медицинского) препарата и которые становятся активным ингредиентом в лекарственном средстве при применении в производстве лекарственного препарата. Такие вещества предназначены для обеспечения фармакологической активности или другого прямого эффекта при диагностике, излечении, облегчении, лечении или профилактике заболевания или для воздействия на структуру или функцию организма.

Термин "лекарственный препарат", или "DP", относится к готовой дозированной форме, например таблетке, капсуле или раствору, которая содержит активный фармацевтический ингредиент (например, лекарственное вещество) по существу, но необязательно, в сочетании с неактивными ингредиентами.

Термин "экспрессионный вектор" относится к вектору, который можно использовать в биологической системе или реконструированной биологической системе для управления трансляцией полипептида, кодируемого полинуклеотидной последовательностью, присутствующей в экспрессионном векторе.

Термин "G0F" относится к асиаловому агалакто- корово-фукозилированному биантенарному гликану.

Термин "содержание олигосахарида G0F" относится к процентному содержанию олигосахарида G0F (G0F %) в олигосахариде гликопротеина.

Термин "G1F" относится к асиаловому моногалакто-корово-фукозилированному биантенарному гликану.

Термин "содержание олигосахарида G1F" относится к процентному содержанию олигосахарида G1F (G1F %) в олигосахариде гликопротеина.

Термин "G2F" относится к асиаловому дигалакто-корово-фукозилированному биантенарному гликану.

Термин "содержание олигосахарида G2F" относится к процентному содержанию олигосахаридов G2F (G2F %) в олигосахариде гликопротеина.

Термин "условия, отвечающие GMP" относится к производству в соответствии с правилами надлежащей производственной практики (CGMP), установленными Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (FDA). CGMP содержат положения, касающиеся систем, обеспечивающих надлежащее проектирование, мониторинг и контроль производственных процессов и объектов. Соблюдение норм CGMP гарантирует подлинность, дозировку, качество и чистоту лекарственных препаратов, требуя от производителей лекарственных средств надлежащим образом контролировать производственные операции. Это включает в себя учреждение строгих систем контроля качества, получение подходящих качественных сырьевых материалов, ввод надежных эксплуатационных процедур, обнаружение и исследование отклонений в качестве продукта и обеспечение функционирования надежных испытательных лабораторий. Эта официальная система контроля в фармацевтической компании, если она надлежащим образом введена в практику, помогает предотвратить случаи загрязнения, пересортицы, отклонений, сбоев и ошибок. Это гарантирует, что лекарственные препараты будут соответствовать установленным для них стандартам качества.

Термин "гуманизированное антитело" относится к антителу, в котором по меньшей мере один CDR получен из биологического вида, отличного от человека, а по меньшей мере один каркас получен из последовательностей человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело может включать в себя замены в каркасных областях, в результате чего каркасы могут не являться точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или человеческих генных последовательностей зародышевой линии.

Термин "человеческое антитело" относится к антителу, которое оптимизировано для обеспечения минимального иммунного ответа при введении человеческому индивиду. Варибельные области человеческого антитела получены из последовательностей иммуноглобулинов человека. Если антитело человека содержит константную область или часть константной области, то константная область также получена из последовательностей иммуноглобулинов человека. Человеческое антитело содержит варибельные области тяжелой и легкой цепи, которые "получены из" последовательностей человеческого происхождения, если варибельные области антитела человека получены из системы, в которой используется человеческий иммуноглобулин зародышевого типа или перестроенные гены иммуноглобулина. Такими примерами систем являются библиотеки генов иммуноглобулинов человека, отображаемые на фаге, и

трансгенных животных, отличных от человека, таких как мыши или крысы, несущие локусы человеческих иммуноглобулинов. "Человеческое антитело", как правило, содержит аминокислотные отличия по сравнению с иммуноглобулинами, экспрессируемыми у людей, из-за различий между системами, используемыми для получения антител человека и локусов иммуноглобулинов человека, внедрения соматических мутаций или намеренного введения замен в каркасные участки или в CDR, либо и в то, и в другое. Как правило, "человеческое антитело" по аминокислотной последовательности по меньшей мере на около 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой генами иммуноглобулина человеческой зародышевой линии или перестроенными генами иммуноглобулина. В некоторых случаях человеческое антитело может содержать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализов человеческих каркасных последовательностей, например, как описано в публикации Knappik et al., *J. Mol. Biol.*, 296:57-86, 2000, или синтетические HCDR3, включенные в библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемые на фаге, например, как описано в публикации Shi et al., *J. Mol. Biol.*, 397:385-96, 2010 и международной патентной публикации № WO 2009/085462. Антитела, в которых по меньшей мере один CDR получен из биологического вида, отличного от человека, не подходят под определение антитела человека.

Термин "выделенный" относится к однородной популяции молекул (таких как синтетические полинуклеотиды или белок, такой как антитело), которые были по существу отделены и/или очищены от других компонентов той системы, в которой данные молекулы формировались, такой как рекомбинантная клетка, а также к белку, который был подвергнут по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. Термин "выделенное антитело" относится к антителу, которое по существу не содержит иных клеточных материалов и/или химических веществ, и охватывает антитела, которые выделены с более высокой чистотой, такой как 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% чистотой.

Термины "информация о лекарственном препарате" и "маркировка" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и относятся ко всем маркировкам и представлениям письменной, печатной или графической информации на контейнере или упаковке, содержащих лекарственное средство, такое как даратумумаб, внутри них или в приложении к ним, или иным образом доступным в электронной форме или в интернете. Термины "информация о лекарственном препарате" и "маркировка" включают в себя листок-вкладыш и инструкцию по применению лекарственного средства.

Термин "моноклональное антитело" относится к антителу, полученному из по существу гомогенной популяции молекул антител, т.е. индивидуальных антител, составляющих популяцию, идентичных за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела или посттрансляционные модификации, такие как изомеризация или дезамидирование аминокислот, окисление метионина или аспарагина или дезамидирование глутамина. Моноклональные антитела обычно связывают один антигенный эпитоп. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональное антитело может быть моноспецифическим или мультиспецифическим, например биспецифическим, а также моновалентным, двухвалентным или мультивалентным.

Термин "полинуклеотид" относится к синтетической молекуле, содержащей цепь нуклеотидов, ковалентно связанных через сахарофосфатную основную цепь или другую эквивалентную ковалентную химическую структуру. кДНК является типичным примером полинуклеотида.

Термин "ч./млрд" или "части на миллиард" относится к количеству металла в растворе или твердом веществе. При измерении в растворе единица "ч./млрд" равна концентрации металла в растворе в мкг/л. При измерении в твердых веществах единица "ч./млрд" равна концентрации металла в растворе в мкг/кг.

Термин "рекомбинантный" относится к полинуклеотидам, антителам и другим белкам, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными способами, в которых сегменты из разных источников соединены с получением рекомбинантной ДНК, антител или белков. Термин "рекомбинантное антитело" включает все антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные рекомбинантными методами, например, антитела, выделенные из организма животного (например, мыши), являющегося трансгенным или трансхромосомным по генам человеческих иммуноглобулинов, или из полученной из него гибридомы (дополнительно описана ниже), антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии антитела, антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки антител, и антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими методами, которые включают сплайсинг последовательностей генов человеческого иммуноглобулина с другими последовательностями ДНК, или антитела, созданные *in vitro* с помощью обмена плеч Fab, такие как биспецифические антитела.

Термин "препарат сравнения" относится к одобренному биологическому препарату, с которым сравнивают биоподобный препарат. Препарат сравнения одобрен на основании, помимо прочего, полного дополнения данных по безопасности и эффективности и одобрен по меньшей мере в США, Европы или Японии.

Термин "рефрактерный" относится к заболеванию, которое не реагирует на лечение. Рефрактерное заболевание может быть устойчивым к лечению до или в начале лечения или рефрактерное заболевание может стать устойчивым во время лечения.

Термин "рецидивирующий" относится к повторному возникновению заболевания или признаков и симптомов заболевания после периода улучшения после предшествующего лечения терапевтическим средством.

Термины "специфическое связывание", или "специфически связывает", или "связывает" относятся к связыванию антитела с антигеном или эпитопом в пределах антигена с большей аффинностью, чем с другими антигенами. Как правило, антитело связывается с антигеном или эпитопом в пределах антигена с равновесной константой диссоциации (K_D) около 1×10^{-8} М или менее, например, около 1×10^{-9} М или менее, около 1×10^{-10} М или менее, около 1×10^{-11} М или менее или около 1×10^{-12} М или менее, как правило, с K_D , которая по меньшей мере в сто раз ниже его K_D связывания с неспецифическим антигеном (например, БСА, казеином). Константу диссоциации можно измерять с помощью стандартных процедур. Однако антитела, которые специфически связываются с антигеном или эпитопом в пределах антигена, могут иметь перекрестную реактивность в отношении других родственных антигенов, например в отношении такого же антигена других биологических видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например *Macaca fascicularis* (яванский макак), *Pan troglodytes* (шимпанзе) или *Callithrix jacchus* (обыкновенная игрунка, игрунка).

Термин "пациент" включает в себя любого человека или не относящееся к человеку животное. Термин "не относящееся к человеку животное" включает в себя всех позвоночных, например млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т.д. Термины "субъект" и "пациент" в настоящем документе могут применяться взаимозаменяемо.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к некоторому количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и масса тела субъекта, а также от способности терапевтического средства или комбинации терапевтических средств вызывать у субъекта желаемый ответ. Примеры показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств, которые включают в себя, например, улучшенное самочувствие пациента.

Термины "лечить" или "лечение" обозначают как терапевтическое лечение, так и профилактические или превентивные меры, причем целью является предотвращение или замедление (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или расстройства, таких как осложнения ракового заболевания. Преимущественные или желательные клинические результаты включают в себя ослабление симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т.е. отсутствие ухудшения) течения заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение или временное улучшение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), как обнаруживаемые, так и не обнаруживаемые. Требующие лечения пациенты включают тех, которые уже имеют состояние или расстройство, а также тех, которые имеют предрасположенность к развитию состояния или расстройства, или тех, у которых такое состояние или расстройство необходимо предотвратить.

Термин "вектор" относится к полинуклеотиду, который способен к удвоению внутри биологической системы, или может быть перемещен между такими системами. Полинуклеотиды-векторы, как правило, содержат элементы, такие как точки начала репликации, сигнал полиаденилирования или селективные маркеры, функция которых состоит в том, чтобы способствовать удвоению или сохранению таких полинуклеотидов в биологической системе. Примеры таких биологических систем могут включать клетку, вирус, животное, растение и реконструированные биологические системы, использующие биологические компоненты, способные к удвоению вектора. Содержащий вектор полинуклеотид может представлять собой молекулы ДНК или РНК или их гибрид.

Способы по описанию.

В описании предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего переменную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 7, и переменную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 частей на миллиард (ч./млрд) или менее марганца (Mn); и

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Мп; и производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Мп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Мп; и производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Мп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Мп; и производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Мп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до 74%.

В некоторых вариантах осуществления подготовка культуральной среды состоит из этапов, на которых выполняется измерение концентрации Мп в одной или более партиях сырьевых компонентов, используемых для приготовления культуральной среды, и выбор одной или более партий сырьевых компонентов, которые в совокупности содержат около 8,5 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 27%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Мп.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, содержит VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду.

В некоторых вариантах осуществления культивирование включает применение подпитываемой культуры или перфузионной культуры.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку.

В некоторых вариантах осуществления эукариотическая клетка представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку BHK.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO дефектна по глутаминсинтетазе (GS).

В некоторых вариантах осуществления способ реализуют в условиях, отвечающих GMP.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 9.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит изотип IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 9 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой биоаналог.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой биоаналог или препарат DARZALEX® (даратумумаб).

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, содержащего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 25%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около

и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 66% до около 74%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 66% до около 74%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, содержащего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, содержащего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 66% до около 74%.

В описании предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 частей на миллиард (ч./млрд) или менее марганца (Mп); и

Производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки яичника китайского хомячка (CHO), содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mп, посредством

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 66% до около 74%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит культивирование клетки-хозяина, экспрессирующей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в условиях продукции антитела к CD38; и

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 посредством контроля концентрации Mn в культуральной среде во время биосинтеза антитела к CD38 и регулирования концентрации Mn в культуральной среде во время биосинтеза антитела к CD38 так, чтобы она составляла около 8,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до 74%.

В некоторых вариантах осуществления концентрацию Mn в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления концентрацию Mn в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления концентрацию Mn в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 27%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%, а концентрацию Mn в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она составляла от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а концентрацию Mn в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она составляла от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а концентрацию Mn в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она составляла от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду.

В некоторых вариантах осуществления культивирование включает применение подпитываемой культуры или перфузионной культуры.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку.

В некоторых вариантах осуществления эукариотическая клетка представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку ВНК.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO дефектна по GS.

В некоторых вариантах осуществления способ реализуют в условиях, отвечающих GMP.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 9.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит изотип IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой биоаналог.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38, экспрессируемого из полинук-

ле к CD38 посредством контроля концентрации Mп в культуральной среде во время биосинтеза антитела к CD38 и регулирования концентрации Mп в культуральной среде во время биосинтеза антитела к CD38, причем концентрацию Mп в культуральной среде регулируют так, чтобы она составляла от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, состоящий из этапов, на которых происходит культивирование клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий антитело к CD38, в культуральной среде, по данным измерений содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, состоящий из этапов, на которых происходит культивирование клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий антитело к CD38, в культуральной среде, в которой концентрацию Mп регулируют так, чтобы она составляла около 8,5 ч./млрд или менее Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, состоящий из этапов, на которых происходит культивирование клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий антитело к CD38, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mп; производится контроль содержания олигосахарида G1F посредством контроля концентрации Mп в культуральной среде во время биосинтеза антитела и регулирования концентрации Mп в культуральной среде во время биосинтеза антитела, посредством чего продуцируется антитело.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, включающий культивирование клетки-хозяина, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим антитело к CD38, в культуральной среде, содержащей около 8,0 ч./млрд или менее Mп, посредством чего продуцируется антитело.

В описании также предложен способ продукции антитела к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, содержащий этапы, на которых происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mп; и происходит культивирование клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий антитело к CD38, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%.

В описании также предложен способ продукции антитела с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, содержащий этапы, на которых происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,0 ч./млрд или менее Mп; и происходит культивирование клетки-хозяина, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим антитело, в культуральной среде, содержащей около 8,0 ч./млрд или менее Mп, посредством чего продуцируется антитело.

В описании предложен способ контроля содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, в процессе биосинтеза антитела в культуральной среде, причем способ состоит из этапов, на которых: выполняется мониторинг уровня Mп в культуральной среде во время биосинтеза антитела; и происходит регулирование уровня Mп в культуральной среде во время биосинтеза антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 26%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 16% до около 26%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 17% до около 26%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 18% до около 26%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 19% до около 26%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 20% до около 26%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание G0F в антителе составляет от около 68 до 74%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65 до 74%.

чтобы она составляла от около 5,0 ч./млрд до около 7,0 ч./млрд.

В некоторых вариантах осуществления концентрацию Мп в культуральной среде регулируют так, чтобы она составляла от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд.

В некоторых вариантах осуществления концентрацию Мп в культуральной среде регулируют так, чтобы она составляла от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд.

В некоторых вариантах осуществления концентрацию Мп в культуральной среде регулируют так, чтобы она составляла от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд.

В некоторых вариантах осуществления культура представляет собой подпитываемую культуру. В некоторых вариантах осуществления культура представляет собой перфузионную культуру.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду. В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду. В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой питательную среду.

В некоторых вариантах осуществления способ реализуют в условиях, отвечающих GMP.

В способах по настоящему описанию можно использовать любую одну или более культуральных сред или их комбинации. Среды широко известны и включают среды Игла MEME (minimal essential media, минимальные питательные среды), среду Хэма F12, F-12 K, среду Дульбекко, модифицированную по способу Дульбекко среду Игла, среду Хэма DMEM/F12 1:1, среду Тровелла T8, A2, среду Уэймута, среду Вильямса E, среду RPMI 1640, среду MCDB 104/110, среду Ventrex HL-1, среду на основе альбумина и глобулина, среду RPMI-1640, среду RPMI-1641, модифицированную по способу Исков среду Дульбекко, среду МакКоя 5 A, среду Лейбовица L-15 и бессывороточные среды, такие как среда EX-CELL™ серии 300, среда на основе суспензии инсулина с цинком и протамином (патент США № 4072565), среда на основе биотина и фолата, среда на основе трансферрина и жирной кислоты (патент США № 4560655), среда на основе трансферрина и ЭФР (патент США № 4615977; патент США № 4786599) и другие комбинации сред (патент США № 6048728; патент США № 7294484; патент США № 5122469; патент США № 5976833; патент США № 6180401; патент США № 5856179; патент США № 5705364; патент США № 7666416; патент США № 6528286; патент США № 6924124; патент США № 7429491), а также другие среды с определенным химическим составом. Композиции сред, как правило, предоставляет поставщик.

Термин "среда с определенным химическим составом" относится к синтетической питательной среде, подлинность и концентрация всех компонентов которой известны. Среды с заданным химическим составом не содержат бактериальных, дрожжевых, животных или растительных экстрактов, сыворотки или плазмы животных, хотя они могут включать или не включать в себя отдельные компоненты растительного или животного происхождения (например, белки, полипептиды и т.д.). Среды с заданным химическим составом могут содержать неорганические соли, такие как фосфаты, сульфаты и т.п., необходимые для поддержания роста. Источник углерода является заданным и, как правило, представляет собой сахар, такой как глюкоза, лактоза, галактоза и т.п., или другие соединения, такие как глицерин, лактат, ацетат и т.п. Хотя в некоторых средах с определенным химическим составом в качестве буфера также используют фосфатные соли, можно использовать другие буферы, такие как цитрат, триэтаноламин и т.п. К примерам доступных в продаже сред с заданным химическим составом относятся среда CD Hybridoma Medium и среда CD Hybridoma AGT™ Medium от компании ThermoFisher, различные среды типа модифицированной по способу Дульбекко среды Игла (Dulbecco's Modified Eagle's, DME) (Sigma-Aldrich Co; SAFC Biosciences, Inc), питательная смесь Ham's Nutrient Mixture (Sigma-Aldrich Co; SAFC Biosciences, Inc), их комбинации и т.п. Способы приготовления сред с заданным химическим составом известны в данной области, например, из патента США № 6171825 и патента США № 6936441, международной патентной публикации № WO 2007/077217, а также патентной публикации США № 2008/0009040 и патентной публикации США № 2007/0212770. Пример культуральной среды, описанный в настоящем документе, может применяться в качестве основной среды или питательной среды. Подпитки для питательных сред с определенным химическим составом, предназначенные для обеспечения клеточной культуры питательными веществами в ходе процессов с подпиткой при культивировании клеток CHO, включают подпитки, предоставляемые IrvineScientific, такие как питательный порошок BalanCD® CHO или жидкие среды.

Примеры компонентов культуральной среды включают незаменимые и заменимые аминокислоты, витамины, источники энергии, липиды и микроэлементы.

Способы, раскрываемые в настоящем описании, могут применяться с любым способом культивирования клеток, пригодным для требуемого процесса (например, продукции рекомбинантного антитела). Клетки можно выращивать в полунепрерывных или подпитываемых культурах, где культивирование прекращается после достаточной экспрессии антитела, после чего экспрессированное антитело собирают. В альтернативном варианте осуществления клетки можно выращивать с дозированной подпиткой, где культивирование не прекращается, и в культуру периодически или непрерывно добавляют новые питательные вещества и другие компоненты, во время чего экспрессированное антитело собирают пе-

риодически или непрерывно. В данной области известны и могут применяться другие подходящие способы (например, культивирование в центрифужных пробирках).

В некоторых вариантах осуществления культура представляет собой подпитываемую культуру. В некоторых вариантах осуществления культура представляет собой периодически подпитываемую культуру. Термин "подпитываемая культура" относится к способу культивирования клеток, в котором дополнительные компоненты добавляются в культуру во время или после начала процесса культивирования. Такие предложенные компоненты, как правило, содержат питательные компоненты для клеток, которые были истощены в процессе культивирования. В какой-то момент культивирование с подпиткой обычно останавливают и клетки и/или компоненты в среде собирают и в некоторых случаях очищают. В некоторых вариантах осуществления подпитываемая культура содержит основную среду с добавлением питательных сред. Клетки можно выращивать в емкостях любого удобного объема. Например, клетки можно выращивать в небольших реакционных сосудах объемом в диапазоне от нескольких миллилитров до нескольких литров. В альтернативном варианте осуществления клетки можно выращивать в крупномасштабных коммерческих биореакторах объемом в диапазоне от по меньшей мере около 1 до 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500, 5000, 8000, 10 000, 12 000, 15 000, 20 000 или 25 000 л или более или в реакторе любого промежуточного объема.

Культуральная среда, содержащая около 8,5 ч./млрд или менее марганца, может быть приготовлена путем анализа концентрации марганца в различных партиях каждого сырьевого материала компонента культуральной среды и выбора этих партий сырьевых компонентов для приготовления культуральной среды, в которой концентрация марганца составляет около 8,5 ч./млрд или менее или, при объединении вместе с общей концентрацией марганца в выбранных компонентах, составляет около 8,5 ч./млрд или менее. Культуральная среда, содержащая около 8,0 ч./млрд или менее марганца, может быть приготовлена путем анализа концентрации марганца в различных партиях каждого сырьевого материала компонента культуральной среды и выбора этих партий сырьевых компонентов для приготовления культуральной среды, в которой концентрация марганца составляет около 8,0 ч./млрд или менее или, при объединении вместе с общей концентрацией марганца в выбранных компонентах, составляет около 8,0 ч./млрд или менее. Культуральная среда, содержащая около 6,5 ч./млрд или менее марганца, может быть приготовлена путем анализа концентрации марганца в различных партиях каждого сырьевого материала компонента культуральной среды и выбора этих партий сырьевых компонентов для приготовления культуральной среды, в которой концентрация марганца составляет около 6,5 ч./млрд или менее или, при объединении вместе с общей концентрацией марганца в выбранных компонентах, составляет около 6,5 ч./млрд или менее. Концентрацию марганца можно измерить в исходных компонентах или в среде, используя способы, описанные в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку. Примерами эукариотических клеток могут быть клетки млекопитающих, насекомых, птиц или другие клетки животного происхождения. Эукариотические клетки млекопитающих включают в себя иммортализованные клеточные линии, такие как гибридомы или клеточные линии миеломы, например, мышинные клеточные линии SP2/0 (Американская коллекция типовых культур (ATCC), г. Манассас, штат Вирджиния, США, CRL-1581), NS0 (Европейская коллекция клеточных культур (ECACC), г. Солсбери, Уилтшир, Великобритания, ECACC № 85110503), FO (ATCC CRL-1646) и Ag653 (ATCC CRL-1580). Примером клеточной линии миеломы человека является U266 (ATTC CRL-TIB-196). Другие используемые клеточные линии включают в себя линии, полученные из клеток яичника китайского хомячка (CHO), такие как HD-BIOP3 GS Null CHO K1 (Horizon Discovery Limited, г. Кембридж, Великобритания, CHO-K1SV (Lonza Biologics, г. Уолкерсвилл, штат Мэриленд, США), CHO-K1 (ATCC CRL-61), DG44, CHO-S или CHO-DXB11.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку ВНК.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO дефектна по глутаминсинтетазе (GS). Известны способы применения GS в качестве селективируемого маркера клеток млекопитающих.

В некоторых вариантах осуществления способ по настоящему описанию реализуют в условиях, отвечающих GMP.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 экспрессируется из полинуклеотида, кодирующего HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 7 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 экспрессируется из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой изотип IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 9 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 экспрессируется из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой препарат DARZALEX® (даратумумаб).

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой биоаналог препарата DARZALEX® (даратумумаб).

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой MOR-202 (MOR-03087), содержащее VH и VL с SEQ ID NO: 11 и 12 соответственно, описанное в патенте США № 8088896. VH и VL MOR-202 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой изатуксимаб, содержащий VH и VL с SEQ ID NO: 13 и 14 соответственно, описанный в патенте США № 8153765. VH и VL изатуксимаба могут экспрессироваться в виде IgG1/κ.

SEQ ID NO: 1

SFAMS

SEQ ID NO: 2

ΛISGSGGGTTYADSVKG

SEQ ID NO: 3

DKILWFGPEVFDY

SEQ ID NO: 4

RASQSVSSYLA

SEQ ID NO: 5

DASNRAT

SEQ ID NO: 6

QQRSNWPPTF

SEQ ID NO: 7

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA

ISGSGGGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK

ILWFGPEVFDYWGQGLTVSS

SEQ ID NO: 8

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD

ASNRTATGIPARFSGSGGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ

GTKVEIK

SEQ ID NO: 9

EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDILWFGPEVFDYW
QGGLTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 10

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSDTFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL
SSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 11

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISG
DPSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFAIYWG
QGGLTVTVSS

SEQ ID NO: 12

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYVYVYVYQQKPGQAPVLLVYGDSCRPS
GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYVCQTYTGGASLVFGGGKLTVLGQ

SEQ ID NO: 13

QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYFTFDYWMQWVKRPGQGLEWIGT
IYPGDGDTGYAQKFGKATLTADKSSKTVYMHLSLASEDSAVYYCARGD
YYGSNSLDYWGQGTSTVTVSS

SEQ ID NO: 14

DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRRLIYS
ASYRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFITSSVQAEDLAVYYCQQHYSPPYTFGG
GTKLEIK

Способы измерения содержания олигосахаридов в антителах.

Содержание олигосахаридов в антителах можно определить способом ВЭЖХ с использованием системы для ВЭЖХ Agilent серии 1100/1200 с программным обеспечением Chemstation/Chemstock. Для количественного определения значений относительного количества гликанов N-связанные олигосахариды сначала отщепляют от восстановленного и денатурированного тестового образца N-гликаназой (ПНГаза F). Высвобожденные гликаны метят антралиновой кислотой, очищают посредством фильтрации с использованием нейлоновых фильтров с размером пор 0,45 мкм и анализируют посредством ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием. Хроматограмма ВЭЖХ служит картой, которую можно использовать для определения подлинности и определения значений относительного количества N-связанных олигосахаридов, присутствующих в образце. Подлинность гликанов определяют путем совместного элюирования со стандартами олигосахаридов, а также по времени удержания.

Количество каждого гликана определяют путем интегрирования площади пика и выражают в процентах от общей площади пика гликана (площадь пика, %). Результаты можно представить в отношении G0F, G1F, G2F, общего содержания незаряженных частиц и общего содержания заряженных гликанов. Также можно анализировать другие незаряженные гликаны, которые представляют собой сумму всех интегрированных пиков, элюируемых в системе в течение периода от 17 до 35 мин, за исключением пиков, соответствующих G0F, G1F и G2F. Общее количество незаряженных гликанов представляет собой сумму G0F, G1F, G2F и других незаряженных частиц. Общее содержание заряженных гликанов представляет собой сумму пиков моносиалированных гликанов, элюируемых в системе в течение периода от 42 до 55 мин, и пиков дисиалированных гликанов, элюируемых в течение периода от 78 до 90 мин.

Смесь стандартов олигосахаридов (G0F, G2F, G2F+N-ацетилнейраминовая кислота (NANA) и G2F+2NANA) анализируют параллельно в качестве положительного контроля реакции мечения, в качестве стандартов для идентификации пиков и в качестве меры пригодности системы. Растворенные олигосахариды компании Prozyme, G0F (№ по кат. GKC-004301), G2F (№ по кат. GKC-024301), SA1F (№ по кат. GKC-124301) и SA2F (№ по кат. GKC-224301) или эквивалентные, используются в качестве стандартов сравнения. Для целей определения пригодности системы также используют холостой отрицательный контроль способа и предварительно меченый стандарт G0F.

Способы измерения концентрации марганца в средах и сухих порошках.

Концентрацию марганца в материалах и в растворе можно измерить с помощью известных способов и способов, описанных в настоящем документе. Масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) можно использовать для количественного определения в частях на миллиард (ч./млрд,

мкг/литр) микроэлемента-металла в исследуемом образце. Процедура кислотного расщепления может применяться для расщепления богатых углеводами источников до диоксида углерода и воды перед введением образца в прибор ИСП-МС, такой как NexION® 350X ICP-MS (PerkinElmer). Для жидкостного химического расщепления можно использовать различные кислоты и окислители, такие как азотная кислота (HNO_3), пероксид водорода (H_2O_2) и хлористоводородная кислота (HCl).

Способы продукции антител.

Известны способы продукции антител в больших объемах. Антитела можно получать, например, в клетках CHO, культивируемых с применением известных способов. Антитело может быть выделено и/или очищено из культуральной среды путем удаления твердых веществ посредством центрифугирования или фильтрации в качестве первой стадии способа очистки. Антитело может быть дополнительно очищено стандартными способами, включая хроматографию (например, ионообменную, аффинную, эксклюзионную хроматографию и хроматографию на гидроксипатите), гель-фильтрацию, центрифугирование или дифференциальную растворимость, осаждение этанолом или любой другой доступной методикой очистки антител. Ингибиторы протеазы, такие как фенилметилсульфонилфторид (PMSF), лейпептин, пепстатин или апротинин, можно добавлять на любой или на всех стадиях с целью уменьшения или предотвращения разрушения антитела в процессе очистки. Специалисту в данной области будет понятно, что точная методика очистки будет меняться в зависимости от свойств очищаемого полипептида или белка, свойств клеток, из которых экспрессируется полипептид или белок, а также от состава среды, в которой выращены клетки.

Способ получения лекарственного препарата.

Способы, описанные в настоящем документе, также включают способы получения лекарственного препарата. Например, в описании предложен способ получения лекарственного препарата, включающий в себя выполнение этапов способа продукции антитела, раскрытых выше в настоящем документе.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mп;

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, приготовленной на этапе а), посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%; и

составляется композиция антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68 до 74%.

В некоторых вариантах осуществления подготовка культуральной среды состоит из этапов, на которых выполняется измерение концентрации Mп в одной или более партиях сырьевых компонентов, используемых для приготовления культуральной среды, и выбор одной или более партий сырьевых компонентов, которые в совокупности содержат около 8,5 ч./млрд или менее Mп.

В некоторых вариантах осуществления культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп.

В некоторых вариантах осуществления культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп.

В некоторых вариантах осуществления культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 27%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду.

В некоторых вариантах осуществления культивирование включает применение подпитываемой культуры или перфузионной культуры.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку.

В некоторых вариантах осуществления эукариотическая клетка представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку ВНК.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO дефектна по глутаминсинтетазе (GS).

В некоторых вариантах осуществления способ реализуют в условиях, отвечающих GMP.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 9.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит изотип IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 представляет собой биоаналог.

В некоторых вариантах осуществления составление композиции лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл в рекомбинантной человеческой гиалуронидазе (rHuPH20) концентрацией около 2000 ед./мл, гистидине в концентрации от около 35 мМ до около 15 мМ, сорбите в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, PS-20 в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионине в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл, = при pH около 5,6.

В некоторых вариантах осуществления составление композиции лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации 20 мг/мл в уксусной кислоте в концентрации около 25 мМ, хлориде натрия в концентрации около 60 мМ, манните в концентрации около 140 мМ и полисорбате-20 (PS-20) в концентрации около 0,04% мас./об.; = при pH около 5,5.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mn;

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%; и

составляется композиция антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mn;

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%; и

составляется композиция антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mn;

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mn, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%; и

составляется композиция антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%; и

составляется композиция антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации около 20 мг/мл в уксусной кислоте в концентрации около 25 мМ, хлориде натрия в концентрации около 60 мМ, манните в концентрации около 140 мМ и полисорбате-20 (PS-20) в концентрации около 0,04% мас./об. при pH около 5,5.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации от около 20 мг/мл до около 180 мг/мл с рекомбинантной человеческой гиалуронидазой (гHuPH20) в количестве от около 30 000 ед. до около 45 000 ед.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с гHuPH20 в количестве около 30 000 ед.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с гHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, полисорбатом 20 (PS-20) в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл при pH около 5,6.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с гHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, полисорбатом 20 (PS-20) в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл при pH около 5,5.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает в себя составление композиции антитела к CD38 в концентрации от около 20 мг/мл до около 180 мг/мл с рекомбинантной человеческой гиалуронидазой (гHuPH20) в количестве от около 30 000 ед. до около 45 000 ед., гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, PS-20 в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл при pH около 5,6.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает в себя составление композиции антитела к CD38 в концентрации от около 20 мг/мл до около 180 мг/мл с рекомбинантной человеческой гиалуронидазой (гHuPH20) в количестве от около 30000 ед. до около 45000 ед., гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, PS-20 в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл при pH около 5,5.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает в себя составление композиции антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с гHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, гистидином в концентрации 10 мМ, сорбитом в концентрации около 300 мМ, метионином в концентрации около 1 мг/мл, полисорбатом 20 в концентрации около 0,04% и гHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл при pH 5,6.

В некоторых вариантах осуществления стадия составления композиции антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата включает в себя составление композиции антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с гHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, гистидином в концентрации 10 мМ, сорбитом в концентрации около 300 мМ, метионином в концентрации около 1 мг/мл, полисорбатом 20 в концентрации около 0,04% и гHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл при pH 5,5.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп;

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в куль-

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%; и

составляется композиция антитела к CD38 в концентрации 20 мг/мл в уксусной кислоте в концентрации около 25 мМ, хлориде натрия в концентрации около 60 мМ, манните в концентрации около 140 мМ и полисорбате-20 (PS-20) в концентрации около 0,04% мас./об. при pH около 5,5.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп;

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25%; и

составляется композиция антитела к CD38 в концентрации 20 мг/мл в уксусной кислоте в концентрации около 25 мМ, хлориде натрия в концентрации около 60 мМ, манните в концентрации около 140 мМ и полисорбате-20 (PS-20) в концентрации около 0,04% мас./об.; при pH около 5,5.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп;

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%; и

составляется композиция антитела к CD38 в концентрации 20 мг/мл в уксусной кислоте в концентрации около 25 мМ, хлориде натрия в концентрации около 60 мМ, манните в концентрации около 140 мМ и полисорбате-20 (PS-20) в концентрации около 0,04% мас./об.; при pH около 5,5.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп;

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%; и

составляется композиция антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с gHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, полисорбатом 20 (PS-20) в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл при pH около 5,6.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27% и содержанием олигосахарида G0F от около 65% до около 74%, включающий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп;

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида,

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%; и

составляется композиция антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с gHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, полисорбатом 20 (PS-20) в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл при pH около 5,6.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп;

производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25%; и

составляется композиция антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с gHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, полисорбатом 20 (PS-20) в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл, при pH около 5,6.

В описании также предложен способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%, содержащий этапы, на которых

происходит приготовление культуральной среды, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп;

производится контроль содержания олигосахарида G1F и содержания олигосахарида G0F в антителе к CD38 путем культивирования клетки CHO, содержащей полинуклеотид, кодирующий HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mп, посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 21% до около 25% и содержанием олигосахарида G0F от около 68% до около 74%; и

составляется композиция антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл с gHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, полисорбатом 20 (PS-20) в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл, при pH около 5,6.

Композиции изобретения.

В описании также предложено лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, причем лекарственное вещество получают с применением способа, содержащего этапы, на которых происходит культивирование клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, в культуральной среде, которая по результатам измерения содержит около 8,5 ч./млрд или менее Mп, посредством чего продуцируется лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

В описании также предложено лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, причем лекарственное вещество получают с применением процесса, содержащего этапы, на которых происходит культивирование клетки CHO, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, в культуральной среде, содержащей около 8,0 ч./млрд или менее Mп, посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В описании также предложено лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, причем лекарственное вещество получают с

Mn, посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В описании также предложено лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, причем лекарственное вещество получают с применением процесса, содержащего этапы, на которых выполняется приготовление культуральной среды, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn; и происходит культивирование клетки-хозяина, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В некоторых вариантах осуществления культуральную среду готовят путем измерения концентрации Mn в одной или более партиях сырьевых компонентов, используемых для приготовления культуральной среды, и выбора одной или более партий сырьевых компонентов, которые в совокупности содержат около 8,5 ч./млрд или менее Mn, для приготовления культуральной среды.

В некоторых вариантах осуществления культуральную среду готовят путем измерения концентрации Mn в одной или более партиях сырьевых компонентов, используемых для приготовления культуральной среды, и выбора одной или более партий сырьевых компонентов, которые в совокупности содержат около 8,0 ч./млрд или менее Mn, для приготовления культуральной среды.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 8,0 ч./млрд, около 7,5 ч./млрд или менее, около 7,0 ч./млрд или менее, около 6,5 ч./млрд или менее, около 6,0 ч./млрд или менее, около 5,5 ч./млрд или менее, или около 5,0 ч./млрд или менее Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 8,0 ч./млрд или менее Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 7,5 ч./млрд или менее Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 7,0 ч./млрд или менее Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 6,5 ч./млрд или менее Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 6,0 ч./млрд или менее Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 5,5 ч./млрд или менее Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 5,0 ч./млрд или менее Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 2 ч./млрд до около 8,0 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 2 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 5,0 ч./млрд до около 8,0 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 5,0 ч./млрд до около 7,5 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 5,0 ч./млрд до около 7,0 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду. В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду. В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой питательную среду.

В некоторых вариантах осуществления культура представляет собой подпитываемую культуру. В некоторых вариантах осуществления культура представляет собой перфузионную культуру.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку.

В некоторых вариантах осуществления эукариотическая клетка представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку BHK.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO дефектна по глутаминсинтетазе (GS).

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

В некоторых вариантах осуществления лекарственное вещество получают в условиях, отвечающих GMP.

В описании также предложен лекарственный препарат, получаемый способами по настоящему описанию.

В описании также предложен лекарственный препарат, содержащий лекарственное вещество по описанию.

В описании также предложен лекарственный препарат, содержащий антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, причем антитело к CD38 получают способом, состоящим из этапов, на которых: происходит культивирование клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий антитело к CD38, в культуральной среде, которая по данным измерений содержит около

8,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосаха-

рида G1F от около 15% до около 27%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 16% до около 26%. В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 17% до около 26%. В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 18% до около 26%. В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 19% до около 26%. В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 20% до около 26%. В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%.

В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%. В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 66 до 74%. В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 67% до около 74%. В некоторых вариантах осуществления содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%.

В некоторых вариантах осуществления осуществления культуральную среду готовят путем измерения концентрации Мп в одной или более партиях сырьевых компонентов, используемых для приготовления культуральной среды, и выбора одной или более партий сырьевых компонентов, которые в совокупности содержат около 8,5 ч./млрд или менее Мп, для приготовления культуральной среды.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 8,0 ч./млрд, около 7,5 ч./млрд или менее, около 7,0 ч./млрд или менее, около 6,5 ч./млрд или менее, около 6,0 ч./млрд или менее, около 5,5 ч./млрд или менее, или около 5,0 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 8,0 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 7,5 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 7,0 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 6,5 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 6,0 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 5,5 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит около 5,0 ч./млрд или менее Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 2 ч./млрд до около 8,0 ч./млрд Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 2 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 5,0 ч./млрд до около 8,0 ч./млрд марганца.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 5,0 ч./млрд до около 7,5 ч./млрд марганца.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 5,0 ч./млрд до около 7,0 ч./млрд марганца.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда содержит от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд марганца.

В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду. В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой основную среду. В некоторых вариантах осуществления культуральная среда представляет собой питательную среду.

В некоторых вариантах осуществления культура представляет собой подпитываемую культуру. В некоторых вариантах осуществления культура представляет собой перфузионную культуру.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку.

В некоторых вариантах осуществления эукариотическая клетка представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку ВНК.

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO дефектна по глутаминсинтетазе (GS).

В некоторых вариантах осуществления клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат получают в условиях, отвечающих GMP.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит антитело к CD38, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат представляет собой препарат сравнения.

CD38 и около 45000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит около 2800 мг антитела к CD38 и около 30000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2800 мг антитела к CD38 и около 45000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2600 мг антитела к CD38 и около 30000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2600 мг антитела к CD38 и около 45000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2400 мг антитела к CD38 и около 30000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2400 мг антитела к CD38 и около 45000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2200 мг антитела к CD38 и около 30000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2200 мг антитела к CD38 и около 45000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2000 мг антитела к CD38 и около 30000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 2000 мг антитела к CD38 и около 45000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 1800 мг антитела к CD38 и около 30000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 1800 мг антитела к CD38 и около 45000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 1600 мг антитела к CD38 и около 30000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 1600 мг антитела к CD38 и около 45000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления гHuPH20 представляет собой гHuPH20, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 22.

гHuPH20 представляет собой рекомбинантную гHuPH20 (рекомбинантный HYLENEX®) и описана в международной патентной публикации № WO2004/078140. гHuPH20 представляет собой фермент, который разлагает гиалуроновую кислоту (ЕС 3.2.1.35) и снижает вязкость гиалуронана во внеклеточной матрице, повышая таким образом проницаемость тканей. Ферментативная активность гHuPH20, включая гHuPH20, может выражаться в единицах на мл (ед./мл) или в виде общей ферментативной активности в конкретном составе (ед.). Стандартное определение для одной единицы (ед.) ферментативной активности представляет собой количество фермента, которое катализирует реакцию на 1 нмоль субстрата в минуту.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит около 120 мг антитела к CD38 и около 30 000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит гистидин в концентрации от около 1 мМ до около 50 мМ.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит гистидин в концентрации от около 5 мМ до около 50 мМ.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит гистидин в концентрации от около 5 мМ до около 30 мМ.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит гистидин в концентрации от около 5 мМ до около 20 мМ.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит гистидин в концентрации около 1 мМ, около 2 мМ, около 3 мМ, около 4 мМ, около 5 мМ, около 6 мМ, около 7 мМ, около 8 мМ, около 9 мМ, около 10 мМ, около 11 мМ, около 12 мМ, около 13 мМ, около 14 мМ, около 15 мМ, около 16 мМ, около 17 мМ, около 18 мМ, около 19 мМ, около 20 мМ, около 21 мМ, около 22 мМ, около 23 мМ, около 24 мМ, около 25 мМ, около 26 мМ, около 27 мМ, около 28 мМ, около 29 мМ, около 30 мМ, около 31 мМ, около 32 мМ, около 33 мМ, около 34 мМ, около 35 мМ, около 36 мМ, около 37 мМ, около 38 мМ, около 39 мМ, около 40 мМ, около 41 мМ, около 42 мМ, около 43 мМ, около 44 мМ, около 45 мМ, около 46 мМ, около 47 мМ, около 48 мМ, около 49 мМ или около 50 мМ.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит сорбит в концентрации от около 50 мМ до около 500 мМ.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит сорбит в концентрации от около 50 мМ до около 450 мМ.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат содержит сорбит в концентрации от около 50 мМ до около 400 мМ.

культуральной среде, содержащей около 8,0 ч./млрд или менее марганца (Mn), посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В описании также предложен лекарственный препарат, содержащий лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, причем лекарственное вещество получают с применением процесса, содержащего этапы, на которых происходит культивирование клетки CHO, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, в культуральной среде, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В описании также предложен лекарственный препарат, содержащий лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, причем лекарственное вещество получают с применением процесса, содержащего этапы, на которых выполняется приготовление культуральной среды, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn; и происходит культивирование клетки-хозяина, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно, в культуральной среде, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется лекарственный препарат.

В описании также предложен лекарственный препарат, содержащий лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, причем лекарственное вещество получают с использованием процесса, содержащего этапы, на которых происходит культивирование клетки CHO, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В описании также предложен лекарственный препарат, содержащий лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, причем лекарственное вещество получают с применением процесса, содержащего этапы, на которых выполняется приготовление культуральной среды, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn; и происходит культивирование клетки-хозяина, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn, посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В описании также предложен лекарственный препарат, содержащий лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, причем лекарственное вещество получают с использованием процесса, содержащего этапы, на которых происходит культивирование клетки CHO, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, в культуральной среде, содержащей около 6,5 частей на миллиард (ч./млрд) или менее марганца (Mn), посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В описании также предложен лекарственный препарат, содержащий лекарственное вещество, содержащее антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10 соответственно, с содержанием олигосахарида G1F от около 15 до 27%, причем лекарственное вещество получают с применением процесса, содержащего этапы, на которых происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее Mn; и происходит культивирование клетки-хозяина, трансфицированной полинуклеотидом, кодирующим HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10 соответственно, в культуральной среде, содержащей около 6,5 ч./млрд или менее марганца (Mn), посредством чего продуцируется лекарственное вещество.

В некоторых вариантах осуществления композиция лекарственного препарата по описанию, представленному в настоящем документе, содержит антитело к CD38 в концентрации 20 мг/мл, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 или 6 соответственно, VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8 и/или HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, составляет в уксусной кислоте в концентрации около 25 мМ, хлориде натрия в концентрации около 60 мМ, манните в концентрации около 140 мМ и полисорбате-20 (PS-20) в концентрации около 0,04% мас./об. при pH около 5,5.

В некоторых вариантах осуществления композиция лекарственного препарата по описанию, представленному в настоящем документе, содержит антитело к CD38 в концентрации от около 20 мг/мл до около 180 мг/мл, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 или 6 соответственно, VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8 и/или HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, и рекомбинантную человеческую гиалуронидазу (гHuPH20) в количестве от около 30 000 Ед до около 45 000 Ед;

гHuPH20 представляет собой рекомбинантную человеческую гиалуронидазу, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 15.

SEQ ID NO: 15:

MGVLKFKHIFRSFVKSSGVSQIVFTFLLIPCLTLNFRAPPVIPNPFLWAWNAPS
 EFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKIS
 LQDHLDKAKKIDIFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWPKPDVYKNRSIELVQQQ
 NVQLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKPKG
 YNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIP
 DAKSPLPVFAATRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGASGIVWGTLSIMRSMKSCS
 LLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEK
 GGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFCYSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADGVCIDAFK
 PPMETEEPQIFYNASPSTLSATMFIVSILFLIISVAVSL

В некоторых вариантах осуществления композиция лекарственного препарата по описанию, представленному в настоящем документе, содержит антитело к CD38 в концентрации от около 20 мг/мл до около 180 мг/мл, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 или 6 соответственно, VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8 и/или HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, рекомбинантную человеческую гиалуронидазу (rHuPH20) в количестве от около 30000 ед. до около 45000 ед., гистидин в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбит в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, PS-20 в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об.; и метионин в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл при pH около 5,5.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат по описанию, представленному в настоящем документе, содержит антитело к CD38 в концентрации 120 мг/мл, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 или 6 соответственно, VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8 и/или HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10, гистидин в концентрации около 10 мМ, сорбит в концентрации около 300 мМ, метионин в концентрации около 1 мг/мл, полисорбат 20 в концентрации около 0,04% и rHuPH20 в концентрации около 2000 ед./мл, pH 5,6.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат представляет собой препарат DARZALEX® (даратумумаб).

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат представляет собой биоаналог препарата DARZALEX® (даратумумаб).

Способ лечения.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у субъекта, который получал по меньшей мере три предшествующие линии терапии, включая ингибитор протеасом (PI) и иммуномодулирующий агент, или который является дважды рефрактерным к терапии PI и иммуномодулирующим агентом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию.

Примеры ингибиторов протеасом включают препарат VELCADE® (бортезомиб), карфилзомиб или иксазомиб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеасом представляет собой бортезомиб. Примеры иммуномодулирующих агентов включают в себя циклоспорин, азатиоприн, микофеноловую кислоту, микофенолата мофетил, кортикостероиды, такие как преднизон, метотрексат, соли золота, сульфасалазин, противомаларийные средства, брехинар, лефлуномид, мизорибин, 15-дезоксиспергуалин, 6-меркаптопурин, циклофосфамид, рапамицин, такролимус (FK-506), OKT3, антитимоцитарный глобулин, тимопентин, тимозин-α и аналогичные агенты.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат вводят в соответствии с информацией о лекарственном препарате.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у субъекта, который получал по меньшей мере две предшествующих линии терапии, включая леналидомид и ингибитор протеасом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию в комбинации с терапевтически эффективным количеством помалидомида и дексаметазона. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат, помалидомид и дексаметазон вводят в дозах, указанных в информации о лекарственном препарате.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у субъекта, который получал по меньшей мере одну предшествующую линию терапии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию в комбинации с терапевтически эффективным количеством леналидомида и дексаметазона. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат, леналидомид и дексаметазон вводят в дозах, указанных в информации о лекарственном препарате.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у субъекта, который получал по меньшей мере одну предшествующую линию терапии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию в комбинации с терапевтически эффективным количеством бортезомиба и дексаметазона. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат бортезомиб и дексаметазон вводят в дозах, указанных в информации о лекарственном препарате.

В настоящем описании также предложен способ лечения множественной миеломы у субъекта, не соответствующего критериям для проведения трансплантации аутологичных стволовых клеток, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию в комбинации с терапевтически эффективным количеством бортезомиба, мелфалана и преднизона. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат бортезомиб, мелфалан и преднизон вводят в дозах, указанных в информации о лекарственном препарате.

В настоящем описании также предложен способ лечения множественной миеломы у субъекта, не соответствующего критериям для трансплантации аутологичных стволовых клеток, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию в комбинации с терапевтически эффективным количеством леналидомида и дексаметазона. В некоторых вариантах осуществления леналидомид и дексаметазон вводят в дозах, указанных в информации о лекарственном препарате.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у субъекта, который получал по меньшей мере одну предшествующую линию терапии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию в комбинации с терапевтически эффективным количеством леналидомида и дексаметазона. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат, леналидомид и дексаметазон вводят в дозах, указанных в информации о лекарственном препарате.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат вводят в дозе 16 мг/кг один раз в неделю в течение 1-6 недель, один раз в три недели в течение 7-54 недель и один раз в четыре недели после этого.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат вводят в дозе 16 мг/кг один раз в неделю в течение 1-8 недель, один раз в две недели в течение 9-24 недель и один раз в четыре недели после этого.

В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат вводят в дозе 16 мг/кг один раз в неделю в течение 1-9 недель, один раз в три недели в течение 10-24 недель и один раз в четыре недели после этого.

В некоторых вариантах осуществления помалидомид вводят в дозе 4 мг один раз в сутки в дни 1-21 повторяющихся 28-дневных циклов перорально, а дексаметазон вводят в дозе 20 мг или 40 мг один раз в неделю внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления леналидомид вводят в дозе 25 мг один раз в сутки в дни 1-21 повторяющихся 28-дневных циклов перорально, а дексаметазон вводят в дозе 20 мг или 40 мг один раз в неделю внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления бортезомиб вводят путем подкожной (п/к) инъекции или внутривенной (в/в) инфузии в дозе 1,3 мг/м² площади поверхности тела два раза в неделю в течение двух недель (дни 1, 4, 8 и 11) в ходе повторяющихся 21-дневных циклов лечения в общем количестве 8 циклов, а дексаметазон вводят в дозе 20 мг перорально в дни 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 и 12 каждого из 8 циклов введения бортезомиба.

В некоторых вариантах осуществления бортезомиб вводят путем подкожной (п/к) инъекции в дозе 1,3 мг/м² площади поверхности тела два раза в неделю на неделях 1, 2, 4 и 5 в течение первого 6-недельного цикла (цикл 1; 8 доз) с последующим введением один раз в неделю на неделях 1, 2, 4 и 5 в течение еще восьми 6-недельных циклов (циклы 2-9; 4 доз на цикл), мелфалан вводят в дозе 9 мг/м² в дни от 1 до 4 девяти 6-недельных циклов (циклы 1-9), а преднизон вводят перорально в дозе 60 мг/м² на дни от 1 до 4 девяти 6-недельных циклов (циклы 1-9).

В описании также предложен способ лечения положительной на наличие CD38 гематологической злокачественной опухоли у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию.

В некоторых вариантах осуществления положительная на наличие CD38 гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), неходжкинскую лимфому, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (ЛБ), фолликулярную лимфому (ФЛ) или мантийноклеточную лимфому (МКЛ), амилоидоз легких цепей, миелогенный лейкоз (ОМЛ), макроглобулинемию Вальденстрема, мелкоклеточную миелому (SMM), моноклональную гаммапатию с неизвестной значимостью (MGUS), мембраннопролиферативный гломеруло-нефрит, хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) или лимфому Беркитта.

Примеры В-клеточных неходжкинских лимфом представляют собой лимфогранулематоз, первичную выпотную лимфому, внутрисосудистую В-крупноклеточную лимфому, средостенную В-крупноклеточную лимфому, заболевания тяжелых цепей (включая γ -, μ - и α -цепи), лимфомы, индуцированные терапией иммуносупрессорными средствами, такие как лимфома, вызванная циклоспорином, и лимфома, вызванная метатрексатом.

В описании также предложен способ ингибирования роста и/или пролиферации клетки, экспрессирующей CD38, включающий введение субъекту лекарственного препарата по настоящему описанию, представленному в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления клетка, экспрессирующая CD38, представляет собой В-клетку, плазмочит, моноцит или Т-клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка, экспрессирующая CD38, участвует в патогенезе опухоли или иммунного расстройства. В некоторых вариантах осуществления иммунное расстройство представляет собой аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления иммунное расстройство представляет собой псориаз, псориатический артрит, дерматит, системную склеродерму, воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), болезнь Крона, язвенный колит, респираторный дистресс-синдром, менингит, энцефалит, увеит, гломерулонефрит, экзему, астму, атеросклероз, недостаток адгезии лейкоцитов, рассеянный склероз, синдром Ренея, синдром Шегрена, ювенильный диабет, болезнь Рейтера, болезнь Бехчета, нефрит иммунного комплекса, нефропатию IgA, полинейропатию IgM, иммуноопосредованные тромбоцитопении, гемолитическую анемию, миастению, волчаночный нефрит, системную красную волчанку, ревматоидный артрит (РА), атопический дерматит, пузырчатку, болезнь Грейвса, тиреоидит Хашимото, гранулематоз Вегенера, синдром Омедна, хроническую почечную недостаточность, острый инфекционный мононуклеоз, рассеянный склероз, ВИЧ и заболевания, ассоциированные с вирусом герпеса.

В описании также предложен способ лечения аутоиммунного расстройства у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по настоящему описанию, представленному в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления аутоиммунное расстройство представляет собой системную красную волчанку, синдром Шегрена или ревматоидный артрит (РА).

Хотя изобретение описано в общих чертах, варианты осуществления изобретения будут дополнительно описаны в следующих примерах, которые не следует толковать как ограничивающие объем формулы изобретения.

Пример. Исследование производства.

Во время производства препарата DARZALEX® (даратумумаб) было установлено, что некоторые партии не соответствуют спецификации (OOS) или не соответствуют предыдущим данным (OOT) в отношении препарата DARZALEX® (даратумумаб), профиль G1F %. Были инициированы исследования для выявления основной причины получения таких партий и, в частности, роли примесей микроэлементов-металлов, таких как марганец (Mn), связанных с сырьевыми материалами, в модуляции профиля гликана в препарате DARZALEX® (даратумумаб).

Исследование по описанию характеристик было разработано для оценки концентрации Mn в сырьевых материалах сухой порошковой среды (DPM) и растворах гидратированных сред, связанных с производственными партиями препарата DARZALEX® (даратумумаб). Активное вещество препарата DARZALEX® (даратумумаб) получали в ходе процесса в 11 стадий, включающего использование подпитываемой клеточной культуры с последующей очисткой в ходе ряда стадий хроматографии, инактивации вирусов и фильтрации. Количество Mn в сырьевых материалах оценивали с помощью ИСП-МС с предварительным расщеплением образцов как DPM, так и гидратированной среды с использованием азотной кислоты и пероксида. Образцы препарата DARZALEX® (даратумумаб) исследовали на предмет значений относительного количества G0F % и G1F % на этапе инактивации и нейтрализации вируса (VIN) или на этапе получения лекарственного вещества (DS).

Концентрацию Mn в DPM использовали в качестве прогностического инструмента для оценки ожидаемой концентрации Mn в гидратированных средах на основании общей доли Mn в основных компонентах DPM. Концентрацию в производственном биореакторе рассчитывали на основе массы, добавленной на литр основной и питательной сред, с прибавлением скорректированной концентрации, основанной на концентрации Mn в основной среде, и концентрации в питательной среде, скорректированной на основании скорости подачи.

Концентрация марганца в гидратированной среде: прогнозируемая концентрация Mn в растворе (мкг/л~ч./млрд)=[(компонент 1 (г/л)×Mn1(ч./млрд))+(компонент 2 (г/л)×Mn2 (ч./млрд))+...(компонент n (г/л) ×Mn n (ч./млрд))]/1000.

Концентрация марганца в биореакторе: (мкг/л~ч./млрд)=Mn в основной среде (ч./млрд)+(Mn в питательной среде (ч./млрд)×скорость подачи).

Гидратация DPM привела к значительному разбавлению концентраций марганца в конечной жидкой среде. В результате такого разбавления концентрации Mn в компонентах гидратированной среды находились за пределами количественного диапазона анализа ИСП-МС. Однако результаты использовали для общего понимания и подтверждения общей качественной взаимосвязи концентрации Mn и гликозилирования, а также для создания модели DPM. Ожидалось, что вариации в этих измерениях гидратированной среды будут больше, чем в измерениях по DPM (которые находились в пределах количественного диапазона).

Были получены данные ИСП-МС в отношении компонентов DPM и препарата DARZALEX® (даратумумаб) G0F % и G1F % по двенадцати производственным партиям. В таблице показан процент G0F, G1F, общая концентрация марганца и концентрации в основных и питательных средах в различных партиях. Данные показали, что концентрация Mn около 6,6 ч./млрд и ниже приводила к соответствию про-

филя гликозилирования препарата DARZALEX® (даратумумаб) спецификации. Корреляция между концентрацией Mn в DPM и процентным содержанием G0F и процентным содержанием G1F в препарате DARZALEX® (даратумумаб) в различных анализируемых партиях показана на фиг. 1 и 2 соответственно. Результаты показали корреляцию $R^2=0,904$ и $R^2=0,939$ соответственно. Партии, показанные на фиг. 1 и 2, не обязательно такие же, как те, которые показаны в таблице.

На фиг. 3 показана расчетная концентрация Mn в DPM и DARZALEX® (даратумумаб) G0F % в партиях OOS, OOT и партиях, прошедших испытание. На фиг. 4 показана расчетная концентрация Mn DPM и DARZALEX® (даратумумаб) G1F% в партиях OOS, OOT и партиях, прошедших испытание.

Партия	G0F (%)	G1F (%)	Концентрация Mn в основной среде (ч/млрд)	Концентрация Mn в питательной среде (ч/млрд)	Общая концентрация Mn (ч/млрд)	Сводные результаты
16C0922	63	29	7,7	23,8	9	OOS
16C0918	64	28	7,9	25,1	9,3	OOS
16C0927	65	27	7,2	22,8	8,4	OOT (соответствует спецификации)
16C0913	66	26	6,2	18,9	7,2	Тест пройден (CPV OOT)
16C0942	67	26	5,8	11,5	6,4	Тест пройден (CPV OOT)
16C0943	67	25	5,9	13,4	6,6	Тест пройден
16C0917	68	22	4,4	12,5	5,1	Тест пройден
16C0928	71	22	3,7	25,7	5,1	Тест пройден
L17C0901	71	21	3,9	11,5	4,5	Тест пройден
L17C0902	71	21	3,9	11,5	4,5	Тест пройден
L17C0903	72	20	3,8	11,3	4,4	Тест пройден
L17C0904	73	20	3,8	11,3	4,4	Тест пройден
3101737	70	23	5	5,4	5,3	Тест пройден
3101738	70	23	5	5,4	5,3	Тест пройден
3101739	70	23	5	8,2	5,5	Тест пройден
3101741	69	23	5	10,4	5,8	Тест пройден
3101742	69	24	5	10,4	5,6	Тест пройден
3101743	70	22	5,1	10,4	5,7	Тест пройден
3101744	70	22	5,1	10,4	5,7	Тест пройден
3101745	70	22	5,2	10,5	5,8	Тест пройден

Значения концентрации Mn, вычисленные на основе измерений в DPM.

OOS: не соответствует спецификации;

OOT: не соответствуют предыдущим данным;

CPV: непрерывная верификация процесса.

На фиг. 5 показан % G1F в производственных партиях препарата DARZALEX® (даратумумаб) с течением времени, при этом в каждой партии к концентрации Mn добавляли концентрацию в основной среде или в питательной среде. На основании этих данных оказалось, что когда общая доля Mn превышала ~8,5 ч./млрд (вторичная ось y), % G1F составлял значение OOT/OOS ($\geq 26\%$ - первичная ось y). Когда общая доля Mn была ниже ~6,5 ч./млрд, % G1F всегда проходил тест и соответствовал предыдущим данным. Концентрация Mn от около 2 ч./млрд до 8 ч./млрд приводила к получению препарата DARZALEX® (даратумумаб) с содержанием % G1F от около 15 до 27%.

В ходе анализа основной причины получения партий OOS/OOT была установлена стратегия контроля процесса в отношении микроэлементов-металлов, которая включала предварительный скрининг компонентов среды на содержание марганца и последующий контроль и/или смешивание различных сред. Стратегия контроля процесса оказалась успешной в устранении партий OOS/OOT препарата DARZALEX® (даратумумаб). На фиг. 6 показана общая концентрация Mn (ч./млрд) до, во время и после

производства партии OOS/OOT. Концентрация Mn в партиях OOT/OOS находилась в диапазоне около 9-10,5 ч./млрд, тогда как в партиях, полученных до или после партий OOT/OOS, концентрация Mn составляла около 5-8 ч./млрд.

Способы.

Количественное определение состава олигосахаридов.

Состав олигосахаридов в препарате DARZALEX® (даратумумаб) определяли с использованием стандартных способов.

Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС).

ИСП-МС использовали для количественного определения концентраций микроэлемента-металла частях на миллиард (ч./млрд, мкг/литр) в среде с определенным химическим составом, используемой для получения различных партий антител. В двух словах, способ состоял из процедуры кислотного расщепления с целью расщепления богатых углеводами источников до диоксида углерода и воды перед введением образца в прибор ИСП-МС, такой как NexION® 350X ICP-MS (PerkinElmer). Для жидкостного химического расщепления использовали различные кислоты и окислители. Предпочтительные комбинации включали азотную кислоту (HNO₃), пероксид водорода (H₂O₂) и хлористоводородную кислоту (HCl).

Для использования при определении концентраций металла в среде с заданным химическим составом был специально разработан способ расщепления, который можно было адаптировать к образцам сухой порошковой среды или гидратированных сред (1 г образца=1 мл образца гидратированной среды).

Способ расщепления.

~1 г образцов сухой среды (±0,5 г, массу регистрировали до 0,001 г) или ~1 мл образцов раствора (±0.5 мл, массу регистрировали до 0,001 г) добавляли в сосуд для расщепления (в данный момент также добавляют применимые меченые растворы).

К образцам добавляли 5,0 мл 50% об./об. HNO₃ (азотной кислоты) и 2,5 мл концентрированной H₂O₂ и затем сосуды для расщепления немедленно накрывали полипропиленовыми прозрачными стаканчиками - медленно добавляли H₂O₂, чтобы избежать выхода бурлящего образца наружу.

Образцы нагревали в течение 30 мин при 95°C (±5°C).

Образцы снимали с нагревающей поверхности и давали остыть.

Добавляли 2,5 мл концентрированной HNO₃ и нагревали образцы в течение 30 мин при 95°C (±5°C). Если образовывались коричневые пары, что указывает на процесс окисления образца HNO₃, стадию повторяли снова и снова до тех пор, пока коричневые пары не переставали выделяться из образца. Отсутствие коричневых паров указывает на полное окисление HNO₃.

Образцы снимали с нагревающей поверхности и давали остыть.

Добавляли 2,5 мл концентрированной HNO₃ и 5 мл концентрированной HCl и нагревали образцы в течение 2 ч при 95°C (±5°C).

Образцы снимали с нагревающей поверхности и давали остыть.

Общий объем образцов доводили до 50 мл деионизированной водой (DIW), и после этого образцы были готовы к анализу.

Весь нагрев при 95°C (±5°C) выполняли с обратным холодильником без кипячения, закрывая образцы полипропиленовыми прозрачными стаканчиками в предварительно нагретой системе разложения проб (например, Hotblock®). Флаконы для расщепления замачивали в 5/5% об./об. HNO₃/HCl в течение ночи и перед использованием трижды промывали DIW. Полипропиленовые прозрачные стаканчики перед использованием замачивали в 5/5% об./об. HNO₃/HCl в течение ночи и перед использованием трижды промывали DIW. Пластиковые наконечники для дозирования перед использованием трижды промывали реагентом. Образцы анализировали с помощью ИСП-МС в течение 2 недель после расщепления. Способы также можно адаптировать к автоматизированным процессам, например, с применением системы автоматического расщепления и выделения продукта реакции Vulcan Automated Digestion and Work-Up System (Questron Technologies Corp.).

Использованные реагенты и стандарты: деионизированная вода (DIW), не содержащая металлов, >18,0 МОм; меченые стандарты микроэлементов-металлов из источников, регламентируемых Национальным институтом стандартов и технологий (NIST); концентрированный HNO₃, степень чистоты химического реактива или выше, протестированный на содержание металлов; 50%-ный раствор HNO₃-500 мл DIW и медленно добавленные 500 мл HNO₃, раствор можно хранить в течение 6 месяцев; концентрированная HCl, степень чистоты химического реактива или выше, протестированная на содержание металлов; концентрированную (30% об./об.) H₂O₂, всю DIW, HNO₃ и HCL тестируют регулярно, чтобы убедиться в отсутствии загрязнения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ продукции препарата антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего переменную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 7 и переменную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахаридов G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

а) происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 частей на миллиард (ч./млрд) или менее марганца (Mn); и

б) производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, приготовленной на этапе а), посредством чего продуцируется антитело к CD38, экспрессируемое из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

2. Способ по п.1, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%.

3. Способ по п.1, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%.

4. Способ по любому из пп.1-3, где содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%.

5. Способ по любому из пп.1-3, где содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68 до 74%.

6. Способ по любому из пп.1-5, где приготовление культуральной среды состоит из этапов, на которых выполняется измерение концентрации Mn в одной или более партиях сырьевых компонентов, используемых для приготовления культуральной среды, и выбор одной или более партий сырьевых компонентов, которые в совокупности содержат около 8,5 ч./млрд или менее Mn.

7. Способ по п.6, где культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mn.

8. Способ по п.7, где культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn.

9. Способ по п.8, где культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn.

10. Способ по любому из пп.1-9, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 27%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Mn.

11. Способ по любому из пп.1-9, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn.

12. Способ по любому из пп.1-9, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Mn.

13. Способ по любому из пп.1-12, где культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду.

14. Способ по любому из пп.1-13, где культивирование включает применение подпитываемой культуры или перфузионной культуры.

15. Способ по любому из пп.1-14, где клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку.

16. Способ по п.15, где эукариотическая клетка представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку ВНК.

17. Способ по п.16, где клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

18. Способ по п.17, где клетка CHO дефектна по глутаминсинтетазе (GS).

19. Способ по любому из пп.1-18, где способ реализуют в условиях, отвечающих GMP.

20. Способ по любому из пп.1-19, где антитело к CD38 содержит VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 9.

21. Способ по любому из пп.1-20, где антитело к CD38 представляет собой изотип IgG1.

22. Способ по любому из пп.1-21, где антитело к CD38 содержит тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 9 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 10.

23. Способ по любому из пп.1-22, где антитело к CD38 представляет собой даратумумаб или биоаналог даратумумаба, при этом биоаналог не содержит значительных модификаций аминокислотной последовательности по сравнению с даратумумабом.

24. Способ продукции препарата антитела к CD38, экспрессируемого из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

а) происходит культивирование клетки-хозяина, экспрессирующей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в условиях продукции антитела к CD38; и

б) производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 посредством контроля

концентрации Мп в культуральной среде во время биосинтеза антитела к CD38 и регулирования концентрации Мп в культуральной среде во время биосинтеза антитела к CD38 так, чтобы она составляла около 8,5 ч./млрд или менее Мп, посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%.

25. Способ по п.24, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%.

26. Способ по п.25, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%.

27. Способ по п.24, где содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%.

28. Способ по п.25, где содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68 до 74%.

29. Способ по п.24, где концентрацию Мп в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Мп.

30. Способ по п.29, где концентрацию Мп в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

31. Способ по п.30, где концентрацию Мп в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

32. Способ по любому из пп.24-30, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 27%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%, а концентрацию Мп в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она составляла от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд.

33. Способ по любому из пп.24-30, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а концентрацию Мп в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она составляла от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд.

34. Способ по любому из пп.24-30, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а концентрацию Мп в культуральной среде регулируют таким образом, чтобы она составляла от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд.

35. Способ по любому из пп.24-34, где культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду.

36. Способ по любому из пп.24-35, где культивирование включает применение подпитываемой культуры или перфузионной культуры.

37. Способ по любому из пп.24-36, где клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку.

38. Способ по п.37, где эукариотическая клетка представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку ВНК.

39. Способ по п.38, где клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

40. Способ по п.39, где клетка CHO дефектна по GS.

41. Способ по любому из пп.24-40, где способ реализуют в условиях, отвечающих GMP.

42. Способ по любому из пп.24-41, где антитело к CD38 содержит VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 9.

43. Способ по любому из пп.24-42, где антитело к CD38 представляет собой изотип IgG1.

44. Способ по любому из пп.24-43, где антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10.

45. Способ по любому из пп.24-44, где антитело к CD38 представляет собой даратумумаб или биоаналог даратумумаба, при этом биоаналог не содержит значительных модификаций аминокислотной последовательности по сравнению с даратумумабом.

46. Способ получения лекарственного препарата, содержащего антитело к CD38, экспрессированное из полинуклеотида, кодирующего VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%, включающий этапы, на которых

а) происходит приготовление культуральной среды, содержащей около 8,5 ч./млрд или менее Мп;

б) производится контроль содержания олигосахарида G1F в антителе к CD38 путем культивирования клетки-хозяина, содержащей полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 8, в культуральной среде, приготовленной на этапе а), посредством чего продуцируется антитело к CD38 с содержанием олигосахарида G1F от около 15% до около 27%; и

с) составляется композиция антитела к CD38 в качестве лекарственного препарата.

47. Способ по п.46, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%.

48. Способ по п.47, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%.

49. Способ по любому из пп.46-49, где содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%.

50. Способ по любому из пп.46-49, где содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68 до 74%.

51. Способ по п.46, где приготовление культуральной среды состоит из этапов, на которых выполняется измерение концентрации Мп в одной или более партиях сырьевых компонентов, используемых для приготовления культуральной среды, и выбор одной или более партий сырьевых компонентов, которые в совокупности содержат около 8,5 ч./млрд или менее Мп.

52. Способ по п.51, где культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Мп.

53. Способ по п.52, где культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

54. Способ по п.53, где культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

55. Способ по любому из пп.46-54, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 27%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 65% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 8,5 ч./млрд Мп.

56. Способ по любому из пп.46-54, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 15% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 4,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

57. Способ по любому из пп.46-54, где содержание олигосахарида G1F в антителе к CD38 составляет от около 21% до около 25%, содержание олигосахарида G0F в антителе к CD38 составляет от около 68% до около 74%, а культуральную среду готовят так, чтобы она содержала от около 5,0 ч./млрд до около 6,5 ч./млрд Мп.

58. Способ по любому из пп.46-57, где культуральная среда представляет собой основную среду или питательную среду.

59. Способ по любому из пп.46-58, где культивирование включает применение подпитываемой культуры или перфузионной культуры.

60. Способ по любому из пп.46-59, где клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку.

61. Способ по п.60, где эукариотическая клетка представляет собой клетку CHO, клетку PER.C6, клетку NS0, клетку Sp2/0 или клетку ВНК.

62. Способ по п.61, где клетка CHO представляет собой клетку CHO-K1, клетку CHO-DG44, клетку CHO-S или клетку CHO-DXB11.

63. Способ по п.62, где клетка CHO дефектна по глутаминсинтетазе (GS).

64. Способ по любому из пп.46-63, где способ реализуют в условиях, отвечающих GMP.

65. Способ по любому из пп.46-64, где антитело к CD38 содержит VH с SEQ ID NO: 7 и VL с SEQ ID NO: 9.

66. Способ по любому из пп.46-65, где выделенное антитело к CD38 представляет собой изотип IgG1.

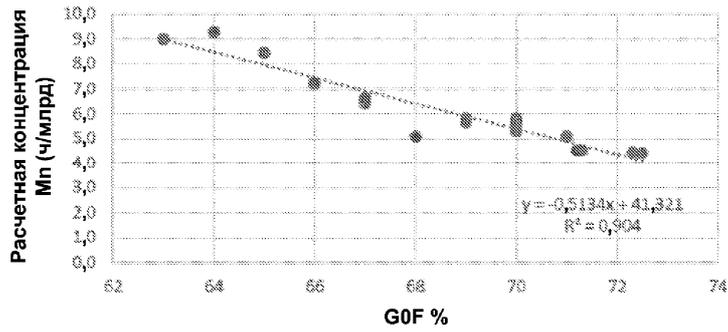
67. Способ по любому из пп.46-66, где антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 9 и LC с SEQ ID NO: 10.

68. Способ по любому из пп.46-67, где антитело к CD38 представляет собой даратумумаб или биоаналог даратумумаба, при этом биоаналог не содержит значительных модификаций аминокислотной последовательности по сравнению с даратумумабом.

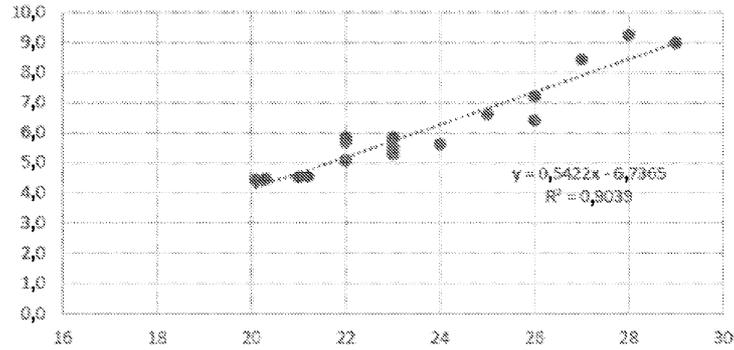
69. Способ по любому из пп.46-68, где составление композиции в качестве лекарственного препарата включает в себя составление композиции антитела к CD38 в концентрации от около 20 мг/мл до около 180 мг/мл с рекомбинантной человеческой гиалуронидазой (гHuPH20) в количестве от около 30000 ед. до около 45000 ед., гистидином в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбитом в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, PS-20 в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионином в концентрации от примерно 1 мг/мл до примерно 2 мг/мл при pH примерно 5,6.

70. Способ по любому из пп.46-69, где составление композиции лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации около 120 мг/мл в рекомбинантной человеческой гиалуронидазе (гHuPH20) концентрацией около 2000 ед./мл, гистидине в концентрации от около 5 мМ до около 15 мМ, сорбите в концентрации от около 100 мМ до около 300 мМ, PS-20 в концентрации от около 0,01% мас./об. до около 0,04% мас./об. и метионине в концентрации от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл при pH около 5,6.

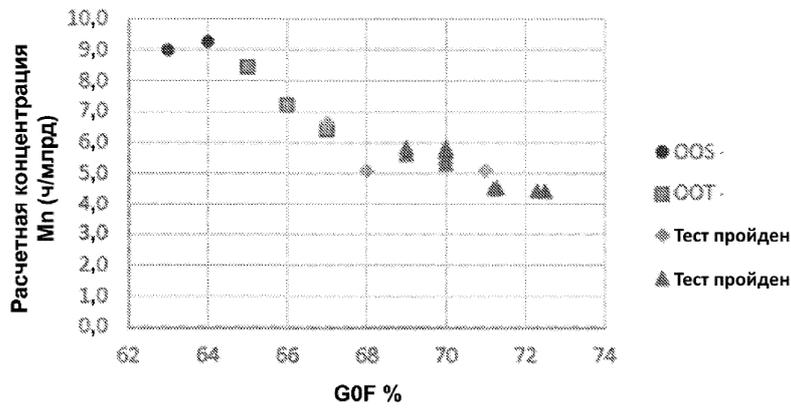
71. Способ по любому из пп.46-68, где составление композиции лекарственного препарата включает составление композиции антитела к CD38 в концентрации 20 мг/мл в уксусной кислоте в концентрации около 25 мМ, хлориде натрия в концентрации около 60 мМ, манните в концентрации около 140 мМ и полисорбате-20 (PS-20) в концентрации около 0,04% мас./об. при pH около 5,5.



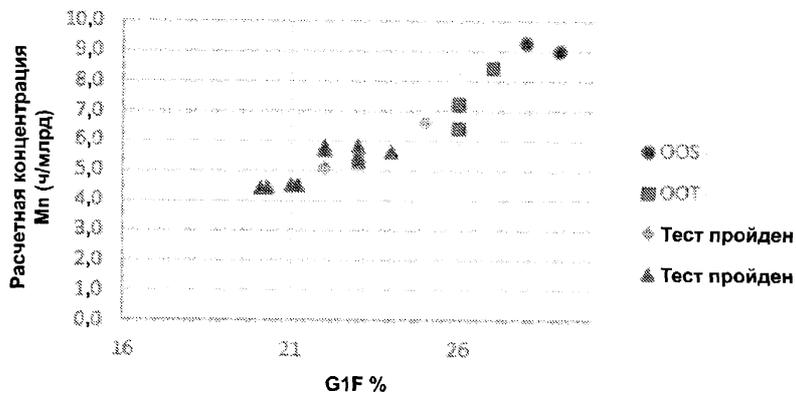
Фиг. 1



Фиг. 2



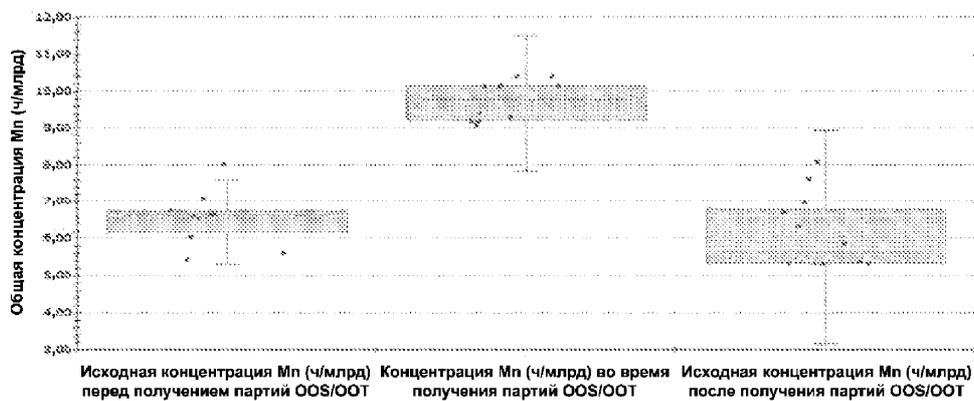
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6