

Drigard & Castro
Abogados

Apartado 3692

Cra. 7 16-56
Bogotá - Colombia S.A.

Tel. Conn. 3802200
Tel./Fax: (57.1) 2827976
(57.1) 3802700

E.Mail:bricas@brigardycastro.com.co

AS: 98.448

Señores
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación: 05074351
Fecha Ofi: 2005-10-27 15:57:14
Remite: DIRECCION DE PATENTES Y REPRESENTACION
Dependencia: DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
Folios: 128

RESPUESTA A OFICIO 7779 DEL 01 SEPTIEMBRE 2005

REF: Expediente No. 05 074.351 - Solicitud de Patente
a favor de: PIERRE FABRE MEDICAMENT
Titulada: NUEVOS ANTICUERPOS ANTI-IGF-IR Y SUS USOS

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO, vecino de Bogotá, portador de la tarjeta profesional No. 57492, obrando como apoderado de la sociedad **PIERRE FABRE MEDICAMENT**, según lo acredita el documento de poder anexo al presente escrito, para dar cumplimiento al requerimiento notificado por fijación en lista el 01 de Septiembre de 2005, y de acuerdo con los Artículos 38 y 39 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, me permito allegar:

1. Documento donde consta la cesión del derecho a la Patente otorgado por los inventores al solicitante, debidamente apostillado, junto con su correspondiente traducción al castellano.
2. Fotocopia autenticada del documento de poder conferido por el solicitante, incluyendo el Certificado que acredita la Existencia y Representación Legal de **PIERRE FABRE MEDICAMENT**, debidamente apostillado, junto con su correspondiente traducción al castellano.
3. Copias certificadas (2) por las Oficinas de Patentes de los Estados Unidos y de Francia de las primeras solicitudes presentadas para la misma invención, de las cuales **REIVINDICAMOS PRIORIDAD**, junto con sus correspondientes traducciones al castellano.
4. Certificados de depósito de Microorganismos (4).
5. Extracto para publicación y Tarjeta de Archivo Temático.

De la señora jefa atentamente,


JUAN PABLO CADENA SARMIENTO
C.C. No. 80.410.337 de Usaquén
Cra 7 No. 16-56 Piso 9

Bogotá, 26 de Octubre de 2005
CHP/MEV/aac

Extracto Publicación
Folio 74

72 73
Z

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO	
PATENTE DE INVENCION <u>X</u> PCT <u> </u> MODELO DE UTILIDAD <u> </u> DISEÑO INDUSTRIAL <u> </u>			
(21) N° de solicitud: 05 074.351		(22) Fecha de solicitud: 28-07-2005	
(54) Clasificación Internacional:		FIGURA CARACTERISTICA 6 x 6 cm	
(71) Solicitante(s) PIERRE FABRE MEDICAMENT			
(72) Inventor(es) Liliana Gostach, Nathalie Corvela			
(74) Agente: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO			
(30) Prioridad (31) No. Prioridad (32) Fecha (33) País			
		60/126,521 29-07-2004 US	
		0408379 29-07-2004 FR	
(85) Fecha inicio fase nacional:		(87) Publicación internacional:	
(86) Datos relativos a la presentación de la solici. PCT		Fecha:	
Fecha de presentación de la solicitud:		No. Publicación:	
No. de solicitud			
(54) Título: NUEVOS ANTICUERPOS ANTI-IGF-IR Y SUS USOS			
Reivindicación(es): 1. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, siendo dicho anticuerpo o uno de dichos fragmentos capaz de unirse al receptor del factor de crecimiento humano similar a insulina I IGF-IR y, al fuera			
CONTINUA AL RESPALDO ...			

necesario, de inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2, y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin-quinasa de dicho IGF-IR; caracterizado porque comprende una cadena liviana que comprende al menos una región determinante de complementariedad CDR elegida entre las CDRs de secuencia SEQ ID No. 1, 2 o 3, o al menos una CDR cuya secuencia tenga al menos un 80% de identidad después de una alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 1, 2 o 3 o porque comprende una cadena pesada que comprende al menos una CDR elegida entre las CDRs de secuencia SEQ ID Nos. 4, 5 y 6, o al menos una CDR cuya secuencia tenga al menos un 80% de identidad después de una alineación óptima con la secuencia SEQ ID No.4, 5 y 6.

TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DEL DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS A LOS FINES DEL PROCEDIMIENTO EN MATERIA DE PATENTES.

FORMULARIO INTERNACIONAL

Para: Monsieur Vincent JOUHANNEAUD.
Responsable de patentes.

Declaración de viabilidad expedida conforme a la norma 10.2 establecida por las Autoridades Internacionales de Depósito cuyos datos aparecen en la página siguiente.

INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE [INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PIERRE FABRE]. CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE [CENTRO DE INMUNOLOGÍA PIERRE FABRE]. 5, avenue NAPOLEÓN III, BP 497, 74164 SAINT-JULIEN-EN-GENEVOIS CEDEX.

(Nombre y dirección de la parte a quien se expide la declaración de viabilidad)

I. DEPOSITANTE		II. IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO
Nombre: PETER PAUWELS INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE [INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PIERRE FABRE] CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE [CENTRO DE INMUNOLOGÍA PIERRE FABRE] Dirección: 5 AVENUE NAPOLEON III BP 497. 74164 SAINT-JULIEN-EN-GENEVOIS CEDEX	N° de acceso otorgado por las Autoridades Internacionales de Depósito: CNCM I-3193 Fecha de depósito o transferencia¹: 25 de marzo de 2004.	
III. DECLARACIÓN DE VIABILIDAD La viabilidad del microorganismo identificado en el punto II fue evaluada el 29 de marzo de 2004². En dicha fecha, el microorganismo mencionado era: ☒ ³ viable ☐ ³ no viable		

1. Indicar la fecha del depósito inicial o, en caso de haberse realizado un nuevo depósito o una transferencia, la fecha más reciente (fecha del nuevo depósito o fecha de la transferencia).

2. En los casos mencionados en la norma 10.2 (a) (ii), mencionar la prueba de viabilidad más reciente.

3. Tildar la casilla de verificación que corresponda.

76
74

IV. CONDICIONES EN LAS QUE SE LLEVÓ A CABO LA PRUEBA DE VIABILIDAD*

V. AUTORIDAD INTERNACIONAL DE DEPÓSITO

Nombre: COLLECTION NATIONALE DE
CULTURES DE MICROORGANISMES
(CNCM) [COLECCIÓN NACIONAL
DE CULTIVOS DE
MICROORGANISMOS]

Dirección: Institut Pasteur. 25, rue
du Docteur Roux, F-75724
Paris Cedex 15 (France)

Firma de la persona autorizada para
representar a las Autoridades
Internacionales de Depósito o del
funcionario autorizado:

Georges Wagener. CNCM, Director
ejecutivo.

Fecha: París, 7 de julio de 2005.

4. Completar sólo si la información ha sido solicitada y los resultados de la prueba son negativos.

75 75

TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DEL DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS A LOS FINES DEL PROCEDIMIENTO EN MATERIA DE PATENTES.

FORMULARIO INTERNACIONAL

Para: Monsieur Vincent JOUHANNEAUD.
Responsable de patentes.

Declaración de viabilidad expedida conforme a la norma 10.2 establecida por las Autoridades Internacionales de Depósito cuyos datos aparecen en la página siguiente.

INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE
[INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PIERRE FABRE]. CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE [CENTRO DE INMUNOLOGÍA PIERRE FABRE]. 5, avenue NAPOLEÓN III, BP 497, 74164 SAINT-JULIEN-EN-GENEVOIS CEDEX.

(Nombre y dirección de la parte a quien se expide la declaración de viabilidad)

I. DEPOSITANTE	II. IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO
Nombre: NATHALIE CORVAIA INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE [INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PIERRE FABRE] CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE [CENTRO DE INMUNOLOGÍA PIERRE FABRE] Dirección: 5 AVENUE NAPOLEON III BP 497. 74164 SAINT-JULIEN-EN-GENEVOIS CEDEX	Nº de acceso otorgado por las Autoridades Internacionales de Depósito: CNCM I-3195 Fecha de depósito o transferencia ¹ : 8 de abril de 2004.
III. DECLARACIÓN DE VIABILIDAD	
La viabilidad del microorganismo identificado en el punto II fue evaluada el 29 de abril de 2004 ² . Al 29 de abril de 2004, el microorganismo mencionado era: ☒ viable ☐ no viable	

1. Indicar la fecha del depósito inicial o, en caso de haberse realizado un nuevo depósito o una transferencia, la fecha más reciente (fecha del nuevo depósito o fecha de la transferencia).

2. En los casos mencionados en la norma 10.2 (a) (ii), mencionar la prueba de viabilidad más reciente.

3. Tildar la casilla de verificación que corresponda.

X

IV. CONDICIONES EN LAS QUE SE LLEVÓ A CABO LA PRUEBA DE VIABILIDAD	
V. AUTORIDAD INTERNACIONAL DE DEPÓSITO	
Nombre: COLLECTION NATIONALE DE CULTURES DE MICROORGANISMES (CNCM) [COLECCIÓN NACIONAL DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS] Dirección: Institut Pasteur. 25, rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15 (France)	Firma de la persona autorizada para representar a las Autoridades Internacionales de Depósito o del funcionario autorizado: Georges Wagener. CNCM, Director ejecutivo. Fecha: París, 7 de julio de 2005.

4. Completar sólo si la información ha sido solicitada y los resultados de la prueba son negativos.

877

TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DEL DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS A LOS FINES DEL PROCEDIMIENTO EN MATERIA DE PATENTES.

FORMULARIO INTERNACIONAL

Para: Monsieur Vincent JOUHANNEAUD.
Responsable de patentes.

Declaración de viabilidad expedida conforme a la norma 10.2 establecida por las Autoridades Internacionales de Depósito cuyos datos aparecen en la página siguiente.

INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE [INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PIERRE FABRE]. CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE [CENTRO DE INMUNOLOGÍA]. 5, avenue NAPOLEÓN III, BP 497, 74164 SAINT-JULIEN-EN-GENEVOIS CEDEX.
(Nombre y dirección de la parte a quien se expide la declaración de viabilidad)

I. DEPOSITANTE		II. IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO
Nombre: NATHALIE CORVAIA INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE [INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PIERRE FABRE] CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE [CENTRO DE INMUNOLOGÍA PIERRE FABRE] Dirección: 5 AVENUE NAPOLEON III BP 497. 74164 SAINT-JULIEN-EN-GENEVOIS CEDEX	Nº de acceso otorgado por las Autoridades Internacionales de Depósito: CNCM I-3214 Fecha de depósito o transferencia¹: 13 de mayo de 2004.	
III. DECLARACIÓN DE VIABILIDAD La viabilidad del microorganismo identificado en el punto II fue evaluada el 2 de junio de 2004 ² . En dicha fecha, el microorganismo mencionado era:		
☒ viable		
☐ no viable		

- Indicar la fecha del depósito inicial o, en caso de haberse realizado un nuevo depósito o una transferencia, la fecha más reciente (fecha del nuevo depósito o fecha de la transferencia).
- En los casos mencionados en la norma 10.2 (a) (ii), mencionar la prueba de viabilidad más reciente.
- Tildar la casilla de verificación que corresponda.

IV. CONDICIONES EN LAS QUE SE LLEVÓ A CABO LA PRUEBA DE VIABILIDAD¹

1

V. AUTORIDAD INTERNACIONAL DE DEPÓSITO

Nombre: COLLECTION NATIONALE DE CULTURES DE MICROORGANISMES (CNCM) [COLECCIÓN NACIONAL DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS]	Firma de la persona autorizada para representar a las Autoridades Internacionales de Depósito o del funcionario autorizado: Georges Wagener. CNCM, Director ejecutivo.
Dirección: Institut Pasteur. 25, rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15 (France)	Fecha: Paris, 7 de julio de 2005.

4. Completar sólo si la información ha sido solicitada y los resultados de la prueba son negativos.

4/4

20 79

TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DEL DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS A LOS FINES DEL PROCEDIMIENTO EN MATERIA DE PATENTES.

FORMULARIO INTERNACIONAL

Para: Monsieur Vincent JOUHANNEAUD.
Responsable de patentes.

Declaración de viabilidad expedida conforme a la norma 10.2 establecida por las Autoridades Internacionales de Depósito cuyos datos aparecen en la página siguiente.

INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE
[INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PIERRE FABRE]. CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE [CENTRO DE INMUNOLOGÍA PIERRE FABRE]. 5, avenue NAPOLEÓN III, BP 497, 74164 SAINT-JULIEN-EN-GENEVOIS CEDEX.

(Nombre y dirección de la parte a quien se expide la declaración de viabilidad)

I. DEPOSITANTE	II. IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO
Nombre: NATHALIE CORVAIA INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE [INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PIERRE FABRE] CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE [CENTRO DE INMUNOLOGÍA PIERRE FABRE] Dirección: 5 AVENUE NAPOLEON III BP 497. 74164 SAINT-JULIEN-EN-GENEVOIS CEDEX	Nº de acceso otorgado por las Autoridades Internacionales de Depósito: CNCM I-3249 Fecha de depósito o transferencia ¹ : 1 de julio de 2004.
III. DECLARACIÓN DE VIABILIDAD	
La viabilidad del microorganismo identificado en el punto II fue evaluada el 1 de julio de 2004 ² . En dicha fecha el microorganismo mencionado era:	
☒ viable	
☐ no viable	

1. Indicar la fecha del depósito inicial o, en caso de haberse realizado un nuevo depósito o una transferencia, la fecha más reciente (fecha del nuevo depósito o fecha de la transferencia).

2. En los casos mencionados en la norma 10.2 (a) (ii), mencionar la prueba de viabilidad más reciente.

3. Tildar la casilla de verificación que corresponda.

IV. CONDICIONES EN LAS QUE SE LLEVÓ A CABO LA PRUEBA DE VIABILIDAD

IV. CONDICIONES EN LAS QUE SE LLEVÓ A CABO LA PRUEBA DE VIABILIDAD

The first two items are related to the fact that the model is based on a single point estimate of the mean value of the dependent variable. This means that the model does not take into account the variability of the data. The third item is related to the fact that the model assumes that the relationship between the independent variables and the dependent variable is linear. This may not be true in all cases.

V. AUTORIDAD INTERNACIONAL DE DEPÓSITO

Nombre: COLLECTION NATIONALE DE CULTURES DE MICROORGANISMES (CNCM) [COLECCIÓN NACIONAL DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS] Dirección: Institut Pasteur. 25, rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15 (France)	Firma de la persona autorizada para representar a las Autoridades Internacionales de Depósito o del funcionario autorizado: Georges Wagener. CNCM, Director ejecutivo. Fecha: París, 7 de julio de 2005.
--	---

4. Completar sólo si la información ha sido solicitada y los resultados de la prueba son negativos.

81

TRADUCCIÓN DEL INGLÉS AL ESPAÑOL de la Solicitud de Patente de los Estados Unidos de América No. 60/591,932 relacionada con:

ANTICUERPOS ANTI-IGF-IR NOVEDOSOS Y USOS DE LOS MISMOS

ANEXOS. La Solicitud de Patente de los Estados Unidos No. 60/591,932 arriba mencionada y Certificación del Comisionado de Patentes y Marcas de los Estados Unidos.

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos d América
2. Este documento público ha sido firmado por M. Tarver
3. actuando en capacidad de Funcionario que certifica
4. lleva el sello/timbre de Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos
Certificado
5. en Washington D.C.
6. el veinticuatro de agosto de 2005
7. por Funcionario de Autenticación Asistente, Departamento de Estado de Estados Unidos
8. No. 05029228-5
9. Sello/timbre
10. Firma
(Firma)
Patrick O. Hatchett

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

A TODO AQUEL A QUIEN PUEDA LLEGARLE LA PRESENTE:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

Agosto 05 de 2005

ESTE PARA CERTIFICAR QUE ANEXO AL PRESENTE SE ENCUENTRA UNA FIEL COPIA TOMADA DE LOS REGISTROS DE LA OFICINA DE PATENTES DE ESTADOS UNIDOS DE AQUELLOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA ABAJO LA CUAL CUMPLE LOS REQUISITOS PARA CONCEDERLE UNA FECHA DE PRESENTACIÓN BAJO EL 35 USC 111.

NÚMERO DE SOLICITUD: 80/591,932

FECHA DE PRESENTACIÓN: Julio 29 de 2005

Por autorización del

Subsecretario de Comercio para la Propiedad Intelectual

y Director de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos

M. TAVER

Funcionario que certifica

83

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de sus fragmentos es capaz de unirse al receptor IGF-IR del factor del crecimiento humano I parecido a la insulina y, de ser necesario, inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2 y/o capaz de inhibir específicamente la actividad de tirosin quinasa de dicho receptor IGF-IR, caracterizado en que comprende:

- una cadena liviana que comprende al menos una región determinante complementaria CDR seleccionada de CDR's de la secuencia SEQ ID No. 1, 2 o 3, o al menos una CDR cuya secuencia tiene al menos 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 1, 2 o 3;
- una cadena pesada que comprende al menos una CDR seleccionado de CDR's de la secuencia SEQ ID Nos. 4, 5, y 6, o al menos una CDR cuya secuencia tiene al menos 80% de identidad después de alineación óptima con la secuencia SEQ ID Nos. 4, 5, y 6.

2. El anticuerpo de la reivindicación 1, denominado 13F5 y caracterizado porque comprende una cadena pesada de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 20 y en que además comprende una cadena liviana de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 19.

3. Un hibridoma de murina capaz de secretar un anticuerpo como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2.

4. El hibridoma de murina como se reivindica en la reivindicación 3 depositada en el CNCm (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, Institut Pasteur, Paris, Francia) el 25 de marzo de 2004 bajo el número I-3193

5. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de sus dichos fragmentos es capaz de unirse al receptor IGF-IR del factor del crecimiento humano I parecido a la insulina y, de ser necesario, inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2 y/o capaz de inhibir específicamente la actividad

84

tirosin quinasa de dicho receptor IGF-IR, caracterizado porque comprende:

- una cadena liviana que comprende al menos una región determinante complementaria CDR seleccionada de las CDR's de la secuencia SEQ ID No. 7, 8, o 9, o al menos una CDR cuya secuencia tiene al menos 80% de identidad después de una alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 7, 8, o 9;
- una cadena pesada que comprende al menos una CDR seleccionada de CDR's de la secuencia SEQ ID Nos. 10, 11, y 12, y en donde la CDR que tiene la secuencia SEQ ID No. 11 puede ser reemplazada por la CDR que tiene la secuencia SEQ ID No. 26, o al menos una secuencia que tiene al menos un 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 10, 11 o 26, y 12.

6. El anticuerpo de la reivindicación 5, denominado 12D5 y caracterizado porque comprende una cadena pesada de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 22 o 23 y porque además comprende una cadena ligera de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 21.

7. Un hibridoma de murina capaz de secretar un anticuerpo como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6.

8. El hibridoma de murina como se reivindica en la reivindicación 7 depositado en el CNCM, Institut Pasteur, Paris, el 8 de abril de 2004 bajo el número I-3195.

9. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de sus dichos fragmentos es capaz de unirse al receptor IGF-IR del factor del crecimiento humano I semejante a la insulina y, de ser necesario, inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2 y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin quinasa de dicho receptor IGF-IR, caracterizado porque comprende:

- una cadena liviana que comprende al menos una región determinante complementaria CDR seleccionada de las CDR's de la secuencia SEQ ID No. 13, 14, o 15, o al menos una CDR cuya secuencia tiene al menos 80% de identidad después de una

alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 13, 14, o 15; y/o

- una cadena pesada que comprende al menos una CDR seleccionada de CDR's de la secuencia SEQ ID Nos. 16, 17, o al menos una secuencia que tiene al menos un 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 16, 17, y 18.

10. El anticuerpo de la reivindicación 9, denominado 2D10 y caracterizado porque comprende una cadena pesada de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 25 y porque además comprende una cadena ligera de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 24.

11. Un hibridoma de murina capaz de secretar un anticuerpo como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10.

12. El hibridoma de murina como se reivindica en la reivindicación 11 depositado en el CNCM, Institut Pasteur, Paris, el 13 de marzo de 2004 bajo el número I-3214.

13. Un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, caracterizado porque dicho anticuerpo es secretado por el hibridoma como se reivindica en la reivindicación 4, 8 o 12.

14. El anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, como se reivindica en la reivindicación 13, caracterizado porque dicho anticuerpo es un anticuerpo quimérico y además comprende las regiones constantes de la cadena ligera y la cadena pesada derivadas de un anticuerpo de una especie heteróloga al ratón.

15. El anticuerpo quimérico, o uno de sus fragmentos funcionales, como se reivindica en la reivindicación 14, caracterizado porque dicha especie heteróloga es el hombre.

16. Un hibridoma de murina depositado en el CNCM, Institut Pasteur, Paris, el 1 de julio de 2004 bajo el número I.3249.

1786

17. Una composición que comprende a modo de principio activo un compuesto que consiste de un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, como se reivindica en una de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 - 15 o producido por el hibridoma de acuerdo con las reivindicaciones 3 - 4, 7 - 8, 11 - 12 o 16.

18. La composición como se reivindica en la reivindicación 17, caracterizada porque comprende, además, como producto de combinación para uso simultaneo, separado o secuencial, un anticuerpo, un agente citotóxico/citostático y/o un inhibidor de la actividad de la tirosin quinasa respectivamente de los receptores para IGF-I y /o EGF.

19. La composición como se reivindica en una de las reivindicaciones 17 o 18 como medicamento.

20. El uso de un anticuerpo, o de uno de sus fragmentos funcionales, como se reivindica en una de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 - 15 o producido por el hibridoma de acuerdo con las reivindicaciones 3 - 4, 7 - 8, 11 - 12 o 16 y/o de una composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19 para la preparación de un medicamento ideado para prevenir o para tratar una enfermedad conectada con la expresión excesiva y/o una activación anormal del receptor IGF-I, y/o conectada con una hiperactivación de la ruta de transducción de la señal mediada por la interacción del IGF1 o el IGF2 con el IGF-IR.

21. El uso como se reivindica en la reivindicación 20 para la preparación de un medicamento ideado para inhibir la transformación de células normales en células con carácter tumoral, preferiblemente dependiente del IGF, específicamente IGF-1 y/o IGF-2.

22. El uso como se reivindica en la reivindicación 20 para la preparación de un medicamento ideado para inhibir el crecimiento y/o proliferación de células tumorales, preferiblemente dependientes del IGF, específicamente células dependientes de IGF-1 y/o IGF-2.

✓ 87

23. El uso como se reivindica en una de las reivindicaciones 20 a 22 para la preparación de un medicamento ideado para la prevención o para el tratamiento del cáncer.

24. El uso como se reivindica en la reivindicación 23, caracterizado porque dicho cáncer se selecciona del cáncer de próstata, osteosarcomas, cáncer del pulmón, cáncer del seno, cáncer del endometrio o cáncer del colon.

25. El uso como se reivindica en una de las reivindicaciones 20 a 22 para la preparación de un medicamento ideado para la prevención o para el tratamiento de soriasis.

26. UN método de diagnóstico *in vitro* de una enfermedad inducida por un exceso de expresión o una falta de expresión del receptor IFG-1 que parte de un muestreo biológico en el que se sospecha la presencia anormal del receptor IGF-I, caracterizado porque dicha muestra biológica es puesta en contacto con un anticuerpo como se reivindica en una de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 - 15 o producido por el hibridoma de acuerdo con las reivindicaciones 3 - 4, 7 - 8, 11 - 12 o 16, ya que es posible para dicho anticuerpo estar, si es necesario, marcado.



24 89

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 26 JUL 2005

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIÈGE
25 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

N° Indigo 0 825 83 85 87

0,15 € TTC/min

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

Réservé à l'INPI

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



REQUÊTE EN DÉLIVRANCE page 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DE 346 4 W / 101203

REMISE DES PIÈCES DATE 29 JUIL 2004 LIEU 75 INPI PARIS 34 SP N° D'ENREGISTREMENT 0408379 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI 29 JUIL 2004		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE Cabinet REGIMBEAU 20, rue de Chazelles 75847 PARIS CEDEX 17 FRANCE	
Vos références pour ce dossier <i>(facultatif)</i> 241563 D22514 MIP			
Confirmation d'un dépôt par télécopie		☐ N° attribué par l'INPI à la télécopie	
2 NATURE DE LA DEMANDE Demande de brevet Demande de certificat d'utilité Demande divisionnaire <i>Demande de brevet initiale</i> <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		Cochez l'une des 4 cases suivantes ☒ ☐ ☐ ☐ N° _____ Date _____ N° _____ Date _____ N° _____ Date _____	
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) NOUVEAUX ANTICORPS ANTI-IGF-IR ET LEURS UTILISATIONS			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ ☐ S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)		☒ Personne morale ☐ Personne physique	
Nom ou dénomination sociale Prénoms Forme juridique N° SIREN Code APE-NAF Domicile ou siège Nationalité N° de téléphone <i>(facultatif)</i> Adresse électronique <i>(facultatif)</i>		PIERRE FABRE MEDICAMENT SOCIETE ANONYME 326118502 45, place Abel Gance 92100 BOULOGNE-BILLANCOURT FRANCE FRANCE Française N° de télécopie <i>(facultatif)</i>	
		☐ S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	

Remplir impérativement la 2^{ème} page

REMISE DES PIÈCES DATE 29 JUIL. 2004 LIEU 75 INPI PARIS 34 SP N° D'ENREGISTREMENT 0408379 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		Réserve à l'INPI	
6 MANDATAIRE (s'il y a lieu) Nom Prénom Cabinet ou Société Nationalité N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		241563 D22514MP Cabinet REGIMBEAU 20, rue de Chazelles	
Adresse Rue Code postal et ville Pays N° de téléphone (facultatif) N° de télécopie (facultatif) Adresse électronique (facultatif)		75847 PARIS CEDEX 17 01 44 29 35 00 01 44 29 35 99 info@regimbeau.fr	
7 INVENTEUR (S) Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques ☐ Oui ☒ Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)	
8 RAPPORT DE RECHERCHE Établissement immédiat ou établissement différé		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation) ☒ Établissement immédiat ☐ Établissement différé Choix à faire obligatoirement au dépôt (cf. Notice explicative Rubrique 8)	
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques ☐ Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) ☐ Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) AG	
10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS Le support électronique de données est joint La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe Si vous avez utilisé l'imprimé «Suites», indiquez le nombre de pages jointes		☒ Cochez la case si la description contient une liste de séquences ☒ ☒	
11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI	

2/90

La présente invention concerne de nouveaux anticorps capables de se lier spécifiquement au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline IGF-IR et/ou capables d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, notamment monoclonaux d'origine murine, chimériques et humanisés, ainsi que les séquences d'acide aminé et nucléique codant pour ces anticorps. L'invention comprend également l'utilisation de ces anticorps à titre de médicament pour le traitement prophylactique et/ou thérapeutique de cancers surexprimant l'IGF-IR ou de toute pathologie liée à la surexpression dudit récepteur ainsi que dans des procédés ou nécessaires de diagnostic de maladies liées à la surexpression de l'IGF-IR. L'invention comprend enfin des produits et/ou des compositions comprenant de tels anticorps en association avec des anticorps anti-EGFR et/ou des anticorps anti-VEGF et/ou des anticorps dirigés contre d'autres facteurs de croissance impliqués dans la progression tumorale ou la métastase et/ou des composés et/ou des agents anticancéreux ou conjugués avec des toxines et leur utilisation pour la prévention et/ou le traitement de certains cancers.

Le récepteur du facteur de croissance I apparenté à l'insuline dénommé IGF-IR ("IGF-IR" pour "Insuline-like Growth Factor-I Receptor") est un récepteur bien décrit à activité tyrosine kinase comportant 70 % d'homologie avec le récepteur à l'insuline IR ("IR" pour "Insuline Receptor"). L'IGF-IR est une glycoprotéine de poids moléculaire d'environ 350 000.

C'est un récepteur hétérotétramérique dont chaque moitié reliée par des ponts disulfures est composée d'une sous unité α extracellulaire et d'une sous unité β transmembranaire. L'IGF-IR fixe l'IGF I et l'IGF II avec une très forte affinité ($K_d \approx 1$ nM) mais est également capable de se lier à l'insuline avec une affinité 100 à 1 000 fois moindre. Inversement, l'IR fixe l'insuline avec une très forte affinité alors que les IGFs ne se fixent au récepteur à l'insuline qu'avec une affinité 100 fois inférieure. Le domaine tyrosine kinase de l'IGF-IR et de l'IR présentent une très forte homologie de séquence alors que les zones de plus faible homologie concernent respectivement la région riche en cystéine située sur la sous

- unité α et la partie C-terminale de la sous unité β . Les différences de séquences observées dans la sous unité α sont situées dans la zone de fixation des ligands et sont donc à l'origine des affinités relatives de l'IGF-IR et de l'IR pour les IGFs et l'insuline respectivement. Les différences dans la partie C-terminale de la sous
- 5 unité β résultent en une divergence dans les voies de signalisation des deux récepteurs ; l'IGF-IR médiant des effets mitogéniques, de différenciation et d'anti-apoptose, alors que l'activation de l'IR entraîne principalement des effets au niveau des voies métaboliques (Baserga et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1332:F105-126, 1997 ; Baserga R., *Exp. Cell. Res.*, 253:1-6, 1999).
- 10 Les protéines tyrosine-kinases cytoplasmiques sont activées par la fixation du ligand au domaine extracellulaire du récepteur. L'activation des kinases entraîne à son tour la stimulation de différents substrats intracellulaires, incluant l'IRS-1, l'IRS-2, Shc et Grb 10 (Peruzzi F. et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 125:166-173, 1999). Les deux substrats majeurs de l'IGF-IR sont IRS et Shc qui
- 15 médient, par l'activation de nombreux effecteurs en aval, la plupart des effets de croissance et de différenciation liés à la fixation des IGFs à ce récepteur. La disponibilité de substrats peut par conséquent dicter l'effet biologique final lié à l'activation de l'IGF-IR. Lorsque l'IRS-1 prédomine, les cellules tendent à proliférer et à se transformer. Lorsque Shc domine, les cellules tendent à se
- 20 différencier (Valentinis B. et al., *J. Biol. Chem.*, 274:12423-12430, 1999). Il semble que la voie principalement en cause pour les effets de protection contre l'apoptose soit la voie des phosphatidylinositol 3-kinases (PI 3-kinases) (Prisco M. et al., *Horm. Metab. Res.*, 31:80-89, 1999 ; Peruzzi F. et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 125:166-173, 1999).
- 25 Le rôle du système IGF dans la cancérogenèse est devenu le sujet de recherches intensives dans les dix dernières années. Cet intérêt a suivi la découverte du fait qu'en plus de ses propriétés mitogéniques et anti-apoptotiques, l'IGF-IR semble être requis pour l'établissement et la maintenance d'un
- 30 phénotype transformé. En fait, il a été bien établi qu'une surexpression ou une activation constitutive de l'IGF-IR conduit, dans une grande variété de cellules, à une croissance des cellules indépendante du support dans des milieux dépourvus

91

de sérum de veau foetal, et à la formation de tumeurs chez la souris nude. Ceci n'est pas en soi une propriété unique puisqu'une grande variété de produits de gènes surexprimés peuvent transformer des cellules, incluant un bon nombre de récepteurs de facteurs de croissance. Mais la découverte cruciale qui a clairement

5 mis en évidence le rôle majeur joué par l'IGF-IR dans la transformation a été la démonstration que les cellules R-, dans lesquelles le gène codant pour l'IGF-IR a été inactivé, sont totalement réfractaires à la transformation par différents agents qui sont habituellement capables de transformer les cellules comme la protéine E5 du papilloma virus bovin, une surexpression de l'EGFR ou du PDGFR, l'antigène

10 T de SV40, ras activé ou la combinaison de ces deux derniers facteurs (Sell C. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 90:11217-11221, 1993 ; Sell C. et al., Mol. Cell. Biol., 14:3604-3612, 1994 ; Morrione A. J., Virol., 69:5300-5303, 1995 ; Coppola D. et al., Mol. Cell. Biol., 14:4588-4595, 1994 ; DeAngelis T et al., J. Cell. Physiol., 164:214-221, 1995).

15 L'IGF-IR est exprimé dans une grande variété de tumeurs et de lignées tumorales et les IGFs amplifient la croissance tumorale via leur fixation à l'IGF-IR. D'autres arguments en faveur du rôle de IGF-IR dans la cancérogenèse proviennent d'études utilisant des anticorps monoclonaux murins dirigés contre le récepteur ou des dominants négatifs de l'IGF-IR. En effet, des anticorps

20 monoclonaux murins dirigés contre l'IGF-IR inhibent la prolifération de nombreuses lignées cellulaires en culture et la croissance de cellules tumorales *in vivo* (Arteaga C. et al., Cancer Res., 49:6237-6241, 1989 ; Li et al., Biochem. Biophys. Res. Com., 196:92-98, 1993 ; Zia F et al., J. Cell. Biol., 24:269-275, 1996 ; Scotlandi K et al., Cancer Res., 58:4127-4131, 1998). Il a également été

25 montré dans les travaux de Jiang et al. (Oncogene, 18:6071-6077, 1999) qu'un dominant négatif de l'IGF-IR est capable d'inhiber la prolifération tumorale.

En ce qui concerne l'intérêt croissant relatif à l'IGF-IR et, plus particulièrement, les anticorps monoclonaux capables de se lier à, ou d'inhiber l'activité tyrosine kinase de l'IGF-IR, les demandeurs ont déjà développé et

30 caractérisé un anticorps monoclonal humanisé dénommée 7C10 ou h7C10 (codé F50035). Une demande de brevet international PCT/FR03/00178 relative à cet

anticorps et ses utilisations a été déposée et publiée le 24 juillet 2003 sous le numéro de publication WO 03/059951. Le contenu de cette demande de brevet figure ci-après pour référence.

La présente invention a pour objet de pouvoir disposer d'un anticorps monoclonal murin, de préférence un anticorps chimérisé ou humanisé, qui reconnaîtra spécifiquement et avec une forte affinité l'IGF-IR. Cet anticorps n'interagira pas ou peu avec le récepteur IR à l'insuline. Sa fixation devra inhiber *in vitro* la croissance des tumeurs exprimant l'IGF-IR en interagissant principalement avec les voies de transduction du signal activées lors des interactions IGF1/IGF-IR et IGF2/IGF-IR. Cet anticorps devra être actif *in vivo* sur tous les types de tumeurs exprimant l'IGF-IR y compris les tumeurs du sein estrogène dépendantes et les tumeurs de la prostate.

Plus particulièrement, la présente invention concerne quatre anticorps monoclonaux anti-IGF-IR différents.

Sous un premier aspect, la présente invention a pour objet un anticorps isolé, ou l'un de ses fragments fonctionnels, ledit anticorps ou l'un de sesdits fragments étant capable de se lier spécifiquement au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline et, le cas échéant, de préférence capable en outre d'inhiber la fixation naturelle des ligands IGF1 et/ou IGF2 de IGF-IR et/ou capable d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une chaîne légère comprenant au moins une région CDR déterminant la complémentarité choisie parmi les CDRs de séquence d'acide aminé SEQ ID Nos. 1, 2 et 3, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 %, de préférence 85 %, 90 %, 95 % et 98 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID Nos. 1, 2 et 3 ; et/ou
- une chaîne lourde comprenant au moins un CDR choisi parmi les CDRs de séquence d'acide aminé SEQ ID Nos. 4, 5 et 6, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 %, de préférence 85 %, 90 %, 95 % et 98 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 4, 5 et 6.

92
23

Dans la présente spécification et les exemples correspondants, cet anticorps sera dénommé 13F5.

Dans la présente description, les termes « se lier » et « se fixer » ont la même signification et sont interchangeables.

- 5 Dans la présente description, les termes polypeptides, séquences polypeptidiques, peptides et protéines attachés aux composés anticorps ou à leur séquence sont interchangeables.

Il doit être compris ici que l'invention ne concerne pas les anticorps sous forme naturelle, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas pris dans leur environnement naturel mais qu'ils ont pu être isolés ou obtenus par purification à partir de sources naturelles, ou bien obtenus par recombinaison génétique, ou par synthèse chimique, et qu'ils peuvent alors comporter des acides aminés non naturels comme cela sera décrit plus loin.

Par régions CDR ou CDRs, on entend désigner les régions hypervariables des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines comme définies par Kabat et al. (Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, NIH, 1991, and later editions). Il existe 3 CDRs de chaîne lourde et 3 CDRs de chaîne légère. Le terme CDR ou CDRs est utilisé ici pour désigner suivant les cas, l'une de ces régions ou plusieurs, voire l'ensemble, de ces régions qui contiennent la majorité des résidus d'acide aminés responsables de la liaison par affinité de l'anticorps pour l'antigène ou l'épitope qu'il reconnaît.

Par « pourcentage d'identité » entre deux séquences d'acide nucléique ou d'acide aminé au sens de la présente invention, on entend désigner un pourcentage de nucléotides ou de résidus d'acides aminés identiques entre les deux séquences à comparer, obtenu après le meilleur alignement (alignement optimal), ce pourcentage étant purement statistique et les différences entre les deux séquences étant réparties au hasard et sur toute leur longueur. Les comparaisons de séquences entre deux séquences d'acide nucléique ou d'acide aminé sont traditionnellement réalisées en comparant ces séquences après les avoir alignées de manière optimale, ladite comparaison pouvant être réalisée par segment ou par

« fenêtre de comparaison ». L'alignement optimal des séquences pour la comparaison peut être réalisé, outre manuellement, au moyen de l'algorithme d'homologie locale de Smith et Waterman (1981) [Ad. App. Math. 2:482], au moyen de l'algorithme d'homologie locale de Neddlerman et Wunsch (1970) [J. Mol. Biol. 48:443], au moyen de la méthode de recherche de similarité de Pearson et Lipman (1988) [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444], au moyen de logiciels informatiques utilisant ces algorithmes (GAP, BESTFIT, FASTA et TFASTA dans le Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI, ou encore par les logiciels de comparaison BLAST N ou BLAST P).

Le pourcentage d'identité entre deux séquences d'acide nucléique ou d'acide aminé est déterminé en comparant ces deux séquences alignées de manière optimale dans laquelle la séquence d'acide nucléique ou d'acide aminé à comparer peut comprendre des additions ou des délétions par rapport à la séquence de référence pour un alignement optimal entre ces deux séquences. Le pourcentage d'identité est calculé en déterminant le nombre de positions identiques pour lesquelles le nucléotide ou le résidu d'acide aminé est identique entre les deux séquences, en divisant ce nombre de positions identiques par le nombre total de positions dans la fenêtre de comparaison et en multipliant le résultat obtenu par 100 pour obtenir le pourcentage d'identité entre ces deux séquences.

Par exemple, on pourra utiliser le programme BLAST, « BLAST 2 sequences » (Tatusova et al., "Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences", FEMS Microbiol Lett. 174:247-250) disponible sur le site <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>, les paramètres utilisés étant ceux donnés par défaut (en particulier pour les paramètres « open gap penalty » : 5, et « extension gap penalty » : 2 ; la matrice choisie étant par exemple la matrice « BLOSUM 62 » proposée par le programme), le pourcentage d'identité entre les deux séquences à comparer étant calculé directement par le programme.

93
24

Par séquence d'acide aminé présentant au moins 80 %, de préférence 85 %, 90 %, 95 % et 98 % d'identité avec une séquence d'acide aminé de référence, on préfère celles présentant par rapport à la séquence de référence, certaines modifications, en particulier une délétion, addition ou substitution d'au moins un

5 acide aminé, une troncation ou un allongement. Dans le cas d'une substitution, d'un ou plusieurs acide(s) aminé(s) consécutif(s) ou non consécutif(s), on préfère les substitutions dans lesquelles les acides aminés substitués sont remplacés par des acides aminés « équivalents ». L'expression « acides aminés équivalents » vise ici à désigner tout acide aminé susceptible d'être substitué à l'un des acides

10 aminés de la structure de base sans cependant modifier essentiellement les activités biologiques des anticorps correspondants et telles qu'elles seront définies par la suite, notamment dans les exemples. Ces acides aminés équivalents peuvent être déterminés soit en s'appuyant sur leur homologie de structure avec les acides aminés auxquels ils se substituent, soit sur des résultats d'essais comparatifs

15 d'activité biologique entre les différents anticorps susceptibles d'être effectués.

A titre d'exemple, on mentionne les possibilités de substitution susceptibles d'être effectuées sans qu'il résulte en une modification approfondie de l'activité biologique de l'anticorps modifié correspondant. On peut remplacer ainsi la leucine par la valine ou l'isoleucine, l'acide aspartique par l'acide

20 glutamine, la glutamine par l'asparagine, l'arginine par la lysine, etc., les substitutions inverses étant naturellement envisageables dans les mêmes conditions.

Sous un deuxième aspect, la présente invention a pour objet un anticorps isolé, ou l'un de ses fragments fonctionnels, ledit anticorps ou l'un de sesdits

25 fragments étant capable de se lier spécifiquement au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline et, le cas échéant, de préférence capable en outre d'inhiber la fixation naturelle des ligands IGF1 et/ou IGF2 de IGF-IR et/ou capable d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, caractérisé en ce qu'il comprend :

30 - une chaîne légère comprenant au moins une région CDR déterminant la complémentarité choisie parmi les CDRs de séquence d'acide aminé SEQ ID Nos.



7, 8 et 9, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 %, de préférence 85 %, 90 %, 95 % et 98 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID Nos. 7, 8 et 9 ; et/ou

- une chaîne lourde comprenant au moins un CDR choisi parmi les CDRs de séquence d'acide aminé SEQ ID Nos. 10, 11 et 12, dans laquelle le CDR de séquence SEQ ID No. 11 peut être remplacé par le CDR de séquence SEQ ID No. 26, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 %, de préférence 85 %, 90 %, 95 % et 98 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 10, 11 (ou 26) et 12.

10 Dans la spécification suivante, cet anticorps sera dénommé 12D5.

Sous un troisième aspect, la présente invention a pour objet un anticorps isolé, ou l'un de ses fragments fonctionnels, ledit anticorps ou l'un de sesdits fragments étant capable de se lier spécifiquement au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline et, le cas échéant, de préférence capable en outre d'inhiber la fixation naturelle des ligands IGF1 et/ou IGF2 de IGF-IR et/ou capable d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une chaîne légère comprenant au moins une région CDR déterminant la complémentarité choisie parmi les CDRs de séquence d'acide aminé SEQ ID Nos. 13, 14 et 15, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 %, de préférence 85 %, 90 %, 95 % et 98 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID Nos. 13, 14 et 15; et/ou

- une chaîne lourde comprenant au moins un CDR choisi parmi les CDRs de séquence d'acide aminé SEQ ID Nos. 16, 17 et 18, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 %, de préférence 85 %, 90 %, 95 % et 98 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 16, 17 et 18.

Dans la spécification suivante, cet anticorps sera dénommé 2D10.

Enfin, sous un autre aspect, la présente invention a pour objet un anticorps isolé, ou l'un de ses fragments fonctionnels, capable de se lier spécifiquement au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline et, le cas échéant, de préférence capable en outre d'inhiber la fixation naturelle des ligands

94 / 11

IGF1 et/ou IGF2 de IGF-IR et/ou capable d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, caractérisé en ce qu'il consiste en l'anticorps dénommé 21E3 et enregistré à la CNCM (COLLECTION NATIONALE DE CULTURES DE MICROORGANISMES, Institut Pasteur, Paris, France) selon le traité de Budapest comme indiqué ci-après.

Les anticorps selon la présente invention, c'est-à-dire 13F5, 12D5, 2D10 et 21E3, sont de préférence des anticorps monoclonaux spécifiques, notamment d'origine murine, chimériques ou humanisés qui pourront être obtenus selon les méthodes standards bien connues de l'homme de l'art.

En général, pour la préparation d'anticorps monoclonaux ou leurs fragments fonctionnels, notamment d'origine murine, on pourra se référer aux techniques qui sont en particulier décrites dans le manuel « Antibodies » (Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor NY, pp. 726, 1988) ou à la technique de préparation à partir d'hybridomes décrite par Kohler et Milstein (Nature, 256:495-497, 1975).

Les anticorps monoclonaux selon l'invention peuvent être obtenus par exemple à partir de cellule d'un animal immunisé contre le récepteur IGF-IR, ou un de ses fragments comportant l'épitope reconnu spécifiquement par lesdits anticorps monoclonaux selon l'invention. Ledit récepteur IGF-IR, ou un de sesdits fragments, pourra notamment être produit selon les modes opératoires usuels, par recombinaison génétique à partir d'une séquence d'acide nucléique contenue dans la séquence de l'ADNc codant pour le récepteur IGF-IR ou par synthèse peptidique à partir d'une séquence d'acides aminés comprise dans la séquence peptidique du récepteur IGF-IR.

Les anticorps monoclonaux selon l'invention pourront par exemple être purifiés sur une colonne d'affinité sur laquelle a préalablement été immobilisé le récepteur IGF-IR ou un de ses fragments comportant l'épitope reconnu spécifiquement par lesdits anticorps monoclonaux selon l'invention. Plus particulièrement, lesdits anticorps monoclonaux pourront être purifiés par chromatographie sur protéine A et/ou G, suivie ou non par une chromatographie par échange d'ions visant à éliminer les contaminants protéiques résiduels ainsi



que l'ADN et les LPS, elle-même suivie ou non par une chromatographie d'exclusion sur gel de sépharose afin d'éliminer les agrégats potentiels dus à la présence de dimères ou d'autres multimères. De manière encore plus préférée, l'ensemble de ces techniques peut être utilisé simultanément ou successivement.

5 Sont également compris par anticorps selon la présente invention, les anticorps chimériques ou humanisés.

 Par anticorps chimérique, on entend désigner un anticorps qui contient une région variable (chaîne légère et chaîne lourde) naturelle dérivée d'un anticorps d'une espèce donnée en association avec les régions constantes de chaîne légère et
10 chaîne lourde d'un anticorps d'une espèce hétérologue à ladite espèce donnée.

 Les anticorps ou leurs fragments de type chimérique selon l'invention peuvent être préparés en utilisant les techniques de recombinaison génétique. Par exemple, l'anticorps chimérique pourra être réalisé en clonant un ADN recombinant comportant un promoteur et une séquence codant pour la région
15 variable d'un anticorps monoclonal non humain, notamment murin, selon l'invention et une séquence codant pour la région constante d'anticorps humain. Un anticorps chimérique de l'invention codé par un tel gène recombinant sera par exemple une chimère souris-homme, la spécificité de cet anticorps étant déterminée par la région variable dérivée de l'ADN murin et son isotype
20 déterminé par la région constante dérivée de l'ADN humain. Pour les méthodes de préparation d'anticorps chimériques, on pourra par exemple se référer au document Verhoeyn et al. (BioEssays, 8:74, 1988).

 Par anticorps humanisés, on entend désigner un anticorps qui contient des régions CDRs dérivées d'un anticorps d'origine non humaine, les autres parties de
25 la molécule d'anticorps étant dérivées d'un (ou de plusieurs) anticorps humains. En outre, certains des résidus des segments du squelette (dénommés FR) peuvent être modifiés pour conserver l'affinité de liaison (Jones et al., Nature, 321:522-525, 1986 ; Verhoeyn et al., Science, 239:1534-1536, 1988 ; Riechmann et al., Nature, 332:323-327, 1988).

30 Les anticorps humanisés selon l'invention ou leurs fragments peuvent être préparés par des techniques connues de l'homme de l'art (comme par exemple

95
76

celles décrites dans les documents Singer et al., J. Immun. 150:2844-2857, 1992 ;
Mountain et al., Biotechnol. Genet. Eng. Rev., 10:1-142, 1992 ; ou Bebbington et
al., Bio/Technology, 10:169-175, 1992). De tels anticorps humanisés selon
l'invention sont préférés pour leur utilisation dans des méthodes de diagnostic *in*
5 *vitro*, ou de traitement prophylactique et/ou thérapeutique *in vivo*.

Par fragment fonctionnel d'un anticorps selon l'invention, on entend
désigner en particulier un fragment d'anticorps, tel que des fragments Fv, scFv (sc
pour simple chaîne), Fab, F(ab')₂, Fab', scFv-Fc ou diabodies, ou tout fragment
dont la durée de demie-vie aurait été augmentée par modification chimique,
10 comme l'ajout de poly(alkylène) glycol tel que le poly(éthylène)glycol
("PEGylation") (fragments pégylés dénommés Fv-PEG, scFv-PEG, Fab-PEG,
(Fab')₂-PEG ou Fab'-PEG) (« PEG » pour Poly(Ethylène)Glycol), ou par
incorporation dans un liposome, lesdits fragments présentant au moins un des
CDRs de séquence SEQ ID No. 1 à 6, 7 à 12 ou 26, ou 13 à 18 caractéristiques
15 selon l'invention, et, notamment, en ce qu'il est capable d'exercer de manière
générale une activité même partielle de l'anticorps dont il est issu, telle qu'en
particulier la capacité à reconnaître et à se lier au récepteur IGF-IR, et, le cas
échéant, à inhiber l'activité du récepteur IGF-IR.

De préférence, lesdits fragments fonctionnels seront constitués ou
20 comprendront une séquence partielle de la chaîne variable lourde ou légère de
l'anticorps dont ils sont dérivés, ladite séquence partielle étant suffisante pour
retenir la même spécificité de liaison que l'anticorps dont elle est issue et une
affinité suffisante, de préférence au moins égale à 1/100, de manière plus préférée
à au moins 1/10 de celle de l'anticorps dont elle est issue, vis-à-vis du récepteur
25 IGF-IR. Un tel fragment fonctionnel comportera au minimum 5 acides aminés, de
préférence 10, 15, 25, 50 et 100 acides aminés consécutifs de la séquence de
l'anticorps dont il est issu.

De préférence, ces fragments fonctionnels seront des fragments de type Fv,
scFv, Fab, F(ab')₂, F(ab'), scFv-Fc ou diabodies, qui possèdent généralement la
30 même spécificité de fixation que l'anticorps dont ils sont issus. Selon la présente
invention, des fragments d'anticorps de l'invention peuvent être obtenus à partir



des anticorps tels que décrits précédemment par des méthodes telles que la digestion par des enzymes, comme la pepsine ou la papaïne et/ou par clivage des ponts disulfures par réduction chimique. D'une autre manière, les fragments d'anticorps compris dans la présente invention peuvent être obtenus par des techniques de recombinaisons génétiques bien connues également de l'homme de l'art ou encore par synthèse peptidique au moyen par exemple de synthétiseurs automatiques de peptides tels que ceux fournis par la société Applied Biosystems, etc.

Plus particulièrement, l'invention comprend les anticorps, ou leurs fragments fonctionnels, selon la présente invention, notamment chimériques ou humanisés, obtenus par recombinaison génétique ou par synthèse chimique.

Selon une première approche ou une seconde approche, l'anticorps sera défini par sa séquence de chaîne lourde et/ou légère.

D'une première manière préférée, la présente invention concerne un anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une chaîne lourde comprenant au moins deux des trois CDRs ou les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 4 à 6, ou au moins deux des trois CDRs ou trois CDRs de séquence présentant respectivement au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 4 à 6 ; et/ou
- une chaîne légère comprenant au moins deux des trois CDRs ou les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 1 à 3, ou au moins deux des trois CDRs ou trois CDRs de séquence présentant respectivement au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 1 à 3.

D'une seconde manière préférée, la présente invention concerne un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une chaîne lourde comprenant au moins deux des trois CDRs ou les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 10 à 12, dans laquelle le CDR de séquence SEQ ID No. 11 peut être remplacé par le CDR de séquence SEQ ID No. 26, ou au moins deux des trois CDRs ou trois CDRs de séquence présentant respectivement au moins

96
✓

80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 10, 11 (ou 26) ; et/ou

- 5 - une chaîne légère comprenant au moins deux des trois CDRs ou les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 7 à 9, ou au moins deux des trois CDRs ou trois CDRs de séquence présentant respectivement au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 7 à 9.

D'une troisième manière préférée, la présente invention concerne un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, caractérisé en ce qu'il comprend :

- 10 - une chaîne lourde comprenant au moins deux des trois CDRs ou les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 16 à 18, ou au moins deux des trois CDRs ou trois CDRs de séquence présentant respectivement au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 16 à 18; et/ou

- 15 - une chaîne légère comprenant au moins deux des trois CDRs ou les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 13 à 15, ou au moins deux des trois CDRs ou trois CDRs de séquence présentant respectivement au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 13 à 15.

Selon une troisième approche, l'anticorps sera défini à la fois par sa séquence de chaîne lourde et sa séquence de chaîne légère.

- 20 D'une première manière préférée, l'anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, est caractérisé en ce qu'il comprend :

- une chaîne lourde comprenant les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 4 à 6, ou trois CDRs de séquence présentant au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 4 à 6 ; et en outre
- 25 - une chaîne légère comprenant les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 1 à 3, ou trois CDRs de séquence présentant au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 1 à 3.

D'une deuxième manière préférée, l'anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, est caractérisé en ce qu'il comprend ;



- une chaîne lourde comprenant les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 10 à 12, ou trois CDRs de séquence présentant au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 10 à 12 ; et en outre
 - une chaîne légère comprenant les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 7 à 9, ou
- 5 trois CDRs de séquence présentant au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 7 à 9.

D'une troisième manière préférée, l'anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, est caractérisé en ce qu'il comprend ;

- une chaîne lourde comprenant les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 16 à 18,
- 10 ou trois CDRs de séquence présentant au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 16 à 18 ; et en outre
- une chaîne légère comprenant les trois CDRs de séquence SEQ ID No. 13 à 15,
- ou trois CDRs de séquence présentant au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 13 à 15.

- 15 Dans encore un autre mode de réalisation préféré, l'anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, dénommé 13F5, est caractérisé en ce qu'il comprend une chaîne lourde de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 20, et en ce qu'il comprend en outre une chaîne légère de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 19.

- 20 Dans encore un autre mode de réalisation préféré, l'anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, dénommé 12D5, est caractérisé en ce qu'il comprend une chaîne lourde de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 22 ou 23, et en ce qu'il comprend en outre une chaîne légère de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 21.

- 25 Dans encore un autre mode de réalisation préféré, l'anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, dénommé 2D10, est caractérisé en ce qu'il comprend une chaîne lourde de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 25, et en ce qu'il comprend en outre une chaîne légère de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 24.

- 30 Une autre possibilité, faisant partie de la présente invention, consiste en un anticorps dans lequel les trois CDRs de la chaîne lourde sont choisis au hasard

97
28

dans le groupe comprenant les CDRs de chaque 13F5, 12D5 et 2D10, et dans lequel les trois CDRs de la chaîne légère sont également choisis au hasard dans le groupe comprenant les CDRs de chaque 13F5, 12D5 et 2D10.

5 Sous un autre aspect, la présente invention a pour objet un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, caractérisé en ce qu'il ne se fixe pas ou qu'il ne se fixe pas de manière significative au récepteur humain IR de l'insuline.

10 De manière préférée, lesdits fragments fonctionnels selon la présente invention seront choisis parmi les fragments Fv, scFv, Fab, (Fab')₂, Fab', scFv-Fc ou diabodies, ou tout fragment fonctionnel dont la demie vie aurait été augmentée par une modification chimique, notamment par PEGylation, ou par l'incorporation dans un liposome.

15 Sous un autre aspect, l'invention concerne un hybridome murin capable de sécréter un anticorps monoclonal selon la présente invention, notamment l'hybridome d'origine murine tel que déposé au Centre National de Culture de Microorganisme (CNCM) (Institut Pasteur, Paris, France).

20 L'anticorps monoclonal dénommé ici 13F5, ou l'un de ses fragments fonctionnels, caractérisé en ce que ledit anticorps est sécrété par l'hybridome déposé à la CNCM le 25 mars 2004 sous le numéro CNCM I-3193, fait bien entendu partie de la présente invention. Cet hybridome consiste en un hybridome murin résultant de la fusion cellulaire de splénocytes d'une souris immunisée avec une lignée de cellules du myélome (Sp20 Ag14).

25 L'anticorps monoclonal dénommé ici 12D5, ou l'un de ses fragments fonctionnels, caractérisé en ce que ledit anticorps est sécrété par l'hybridome déposé à la CNCM le 8 avril 2004 sous le numéro CNCM I-3195, fait bien entendu partie de la présente invention. Cet hybridome consiste en un hybridome murin résultant de la fusion cellulaire de splénocytes d'une souris immunisée avec une lignée de cellules du myélome (Sp20 Ag14).

30 L'anticorps monoclonal dénommé ici 2D10, ou l'un de ses fragments fonctionnels, caractérisé en ce que ledit anticorps est sécrété par l'hybridome déposé à la CNCM le 13 mars 2004 sous le numéro I-3214, fait bien entendu



partie de la présente invention. Cet hybridome consiste en un hybridome murin résultant de la fusion cellulaire de splénocytes d'une souris immunisée avec une lignée de cellules du myélome (Sp20 Ag14).

5 L'anticorps monoclonal dénommé ici 21E3, ou l'un de ses fragments fonctionnels, caractérisé en ce que ledit anticorps est sécrété par l'hybridome déposé à la CNCM le 1^{er} juillet 2004 sous le numéro I-3249, fait bien entendu partie de la présente invention. Cet hybridome consiste en un hybridome murin résultant de la fusion cellulaire de splénocytes d'une souris immunisée avec une lignée de cellules du myélome (Sp20 Ag14).

10 Sous un aspect également particulier, la présente invention concerne un anticorps chimérique, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, caractérisé en ce que ledit anticorps comprend en outre les régions constantes de chaîne légère et de chaîne lourde dérivées d'un anticorps d'une espèce hétérologue à la souris, notamment de l'Homme, et de manière préférée, en ce que
15 les régions constantes de chaîne légère et de chaîne lourde dérivées d'un anticorps humain sont respectivement la région kappa et, gamma-1, gamma-2 ou gamma-4.

Sous un nouvel aspect, la présente invention concerne un acide nucléique isolé caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les acides nucléiques suivants :

- 20 a) un acide nucléique, ADN ou ARN, codant pour un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention ;
b) un acide nucléique complémentaire d'un acide nucléique tel que défini en a).

Par acide nucléique, séquence nucléique ou d'acide nucléique, polynucléotide, oligonucléotide, séquence de polynucléotide, séquence
25 nucléotidique, termes qui seront employés indifféremment dans la présente description, on entend désigner un enchaînement précis de nucléotides, modifiés ou non, permettant de définir un fragment ou une région d'un acide nucléique, comportant ou non des nucléotides non naturels. et pouvant correspondre aussi bien à un ADN double brin, un ADN simple brin que des produits de transcription
30 desdits ADNs.

98
7/

Il doit être aussi compris ici que la présente invention ne concerne pas les séquences nucléotidiques dans leur environnement chromosomique naturel, c'est-à-dire à l'état naturel. Il s'agit de séquences qui ont été isolées et/ou purifiées, c'est-à-dire qu'elles ont été prélevées directement ou indirectement, par exemple
5 par copie, leur environnement ayant été au moins partiellement modifié. On entend ainsi également désigner ici les acides nucléiques isolés obtenus par recombinaison génétique au moyen par exemple de cellules hôtes ou obtenus par synthèse chimique.

Une hybridation dans des conditions de forte stringence signifie que les
10 conditions de température et de force ionique sont choisies de telle manière qu'elles permettent le maintien de l'hybridation entre deux fragments d'ADN complémentaires. A titre illustratif, des conditions de forte stringence de l'étape d'hybridation aux fins de définir les fragments polynucléotidiques décrits ci-dessus, sont avantageusement les suivantes.

15 L'hybridation ADN-ADN ou ADN-ARN est réalisée en deux étapes : (1) préhybridation à 42°C pendant 3 heures en tampon phosphate (20 mM, pH 7,5) contenant 5 x SSC (1 x SSC correspond à une solution 0,15 M NaCl + 0,015 M citrate de sodium), 50 % de formamide, 7 % de sodium dodécyl sulfate (SDS), 10 x Denhardt's, 5 % de dextran sulfate et 1 % d'ADN de sperme de saumon ; (2)
20 hybridation proprement dite pendant 20 heures à une température dépendant de la taille de la sonde (c'est-à-dire : 42°C, pour une sonde de taille > 100 nucléotides) suivie de 2 lavages de 20 minutes à 20°C en 2 x SSC + 2 % SDS, 1 lavage de 20 minutes à 20°C en 0,1 x SSC + 0,1 % SDS. Le dernier lavage est pratiqué en 0,1 x SSC + 0,1 % SDS pendant 30 minutes à 60°C pour une sonde de taille > 100
25 nucléotides. Les conditions d'hybridation de forte stringence décrites ci-dessus pour un polynucléotide de taille définie, peuvent être adaptées par l'homme du métier pour des oligonucléotides de taille plus grande ou plus petite, selon l'enseignement de Sambrook et al., (1989, Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd Ed. Cold Spring Harbor).

30 L'invention est également relative à un vecteur comprenant un acide nucléique selon la présente invention.



L'invention vise notamment les vecteurs de clonage et/ou d'expression qui contiennent une séquence nucléotidique selon l'invention.

Les vecteurs selon l'invention comportent de préférence des éléments qui permettent l'expression et/ou la sécrétion des séquences nucléotidiques dans une cellule hôte déterminée. Le vecteur doit alors comporter un promoteur, des signaux d'initiation et de terminaison de la traduction, ainsi que des régions appropriées de régulation de la transcription. Il doit pouvoir être maintenu de façon stable dans la cellule hôte et peut éventuellement posséder des signaux particuliers qui spécifient la sécrétion de la protéine traduite. Ces différents éléments sont choisis et optimisés par l'homme du métier en fonction de l'hôte cellulaire utilisé. A cet effet, les séquences nucléotidiques selon l'invention peuvent être insérées dans des vecteurs à réplication autonome au sein de l'hôte choisi, ou être des vecteurs intégratifs de l'hôte choisi.

De tels vecteurs sont préparés par des méthodes couramment utilisées par l'homme du métier, et les clones résultant peuvent être introduits dans un hôte approprié par des méthodes standard, telles que la lipofection, l'électroporation, le choc thermique, ou des méthodes chimiques.

Les vecteurs selon l'invention sont par exemple des vecteurs d'origine plasmidique ou virale. Ils sont utiles pour transformer des cellules hôtes afin de cloner ou d'exprimer les séquences nucléotidiques selon l'invention.

L'invention comprend également les cellules hôtes transformées par ou comprenant un vecteur selon l'invention.

L'hôte cellulaire peut être choisi parmi des systèmes procaryotes ou eucaryotes, par exemple les cellules bactériennes mais également les cellules de levure ou les cellules animales, en particulier les cellules de mammifères. On peut également utiliser des cellules d'insectes ou des cellules de plantes.

L'invention concerne également les animaux, excepté l'Homme, qui comprennent au moins une cellule transformée selon l'invention.

Sous un autre aspect, l'invention a pour objet un procédé de production d'un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels selon l'invention, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

99
30

a) la culture dans un milieu et conditions de culture appropriés d'une cellule hôte selon l'invention ; et

b) la récupération desdits anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, ainsi produits à partir du milieu de culture ou desdites cellules cultivées.

5 Les cellules transformées selon l'invention sont utilisables dans des procédés de préparation de polypeptides recombinants selon l'invention. Les procédés de préparation d'un polypeptide selon l'invention sous forme recombinante, caractérisés en ce qu'ils mettent en œuvre un vecteur et/ou une cellule transformée par un vecteur selon l'invention sont eux-mêmes compris dans
10 la présente invention. De préférence, on cultive une cellule transformée par un vecteur selon l'invention dans des conditions qui permettent l'expression dudit polypeptide et on récupère ledit peptide recombinant.

Ainsi qu'il a été dit, l'hôte cellulaire peut être choisi parmi des systèmes procaryotes ou eucaryotes. En particulier, il est possible d'identifier des séquences
15 nucléotidiques selon l'invention, facilitant la sécrétion dans un tel système procaryote ou eucaryote. Un vecteur selon l'invention portant une telle séquence peut donc être avantageusement utilisé pour la production de protéines recombinantes, destinées à être sécrétées. En effet, la purification de ces protéines recombinantes d'intérêt sera facilitée par le fait qu'elles sont présentes dans le
20 surnageant de la culture cellulaire plutôt qu'à l'intérieur des cellules hôtes.

On peut également préparer les polypeptides selon l'invention par synthèse chimique. Un tel procédé de préparation est également un objet de l'invention. L'homme du métier connaît les procédés de synthèse chimique, par exemple les techniques mettant en œuvre des phases solides (voir notamment Steward et al.,
25 1984, Solid phase peptides synthesis, Pierce Chem. Company, Rockford, 111, 2ème éd., (1984)) ou des techniques utilisant des phases solides partielles, par condensation de fragments ou par une synthèse en solution classique. Les polypeptides obtenus par synthèse chimique et pouvant comporter des acides aminés non naturels correspondants sont également compris dans l'invention.

Les anticorps, ou l'un de leurs fragments fonctionnels, susceptibles d'être obtenus par un procédé selon l'invention sont également compris dans la présente invention.

5 Selon une deuxième forme d'exécution, la présente invention concerne un anticorps selon l'invention tel que décrit plus haut, caractérisé en ce qu'il est, en outre, capable de se lier spécifiquement sur le récepteur humain du facteur de croissance de l'épiderme EGFR et/ou capable d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur EGFR.

10 L'invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant à titre de principe actif un composé consistant en un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, de préférence additionné d'un excipient et/ou d'un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

15 Une autre forme d'exécution complémentaire de l'invention consiste en une composition telle que décrite plus haut qui comprend, en outre, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, un agent cytotoxique/cytostatique et/ou un inhibiteur de l'activité tyrosine kinase respectivement des récepteurs à l'IGF-I et/ou à l'EGF.

20 On entend par « utilisation simultanée », l'administration des deux composés de la composition selon l'invention compris dans une seule et même forme pharmaceutique.

On entend par « utilisation séparée », l'administration, en même temps, des deux composés de la composition selon l'invention, compris dans des formes pharmaceutiques distinctes.

25 On entend par « utilisation étalée dans le temps », l'administration successive des deux composés de la composition selon l'invention, compris chacun dans une forme pharmaceutique distincte.

30 D'une façon générale, la composition selon l'invention augmente considérablement l'efficacité du traitement du cancer. En d'autres termes, l'effet thérapeutique de l'anticorps anti-IGF-IR selon l'invention est potentialisé de manière inattendue par l'administration d'un agent cytotoxique. Un autre avantage subséquent majeur produit par une composition selon l'invention, concerne la

100
31

possibilité d'utiliser des doses efficaces en principe actif plus faibles, ce qui permet d'éviter ou de réduire les risques d'apparition des effets secondaires, en particulier l'effet de l'agent cytotoxique.

De plus, cette composition selon l'invention permettrait d'atteindre l'effet thérapeutique escompté plus rapidement.

Dans un mode de réalisation particulièrement préféré, ladite composition comme produit de combinaison selon l'invention est caractérisée en ce que ledit agent cytotoxique/cytostatique est choisi parmi les agents interagissant avec l'ADN, les antimétabolites, les inhibiteurs de topoisomérases I ou II, ou encore les agents inhibiteurs ou stabilisateurs du fuseau ou encore tout agent susceptible d'être utilisé en chimiothérapie. De tels agents cytotoxiques/cytostatiques, pour chacune des classes d'agents cytotoxiques précitées, sont par exemple cités dans l'édition 2001 du VIDAL, à la page consacrée aux composés attachés à la cancérologie et l'hématologie colonne « Cytotoxiques », ces composés cytotoxiques cités par référence à ce document sont cités ici comme agents cytotoxiques préférés.

Dans un mode de réalisation particulièrement préféré, ladite composition comme produit de combinaison selon l'invention est caractérisée en ce que ledit agent cytotoxique est couplé chimiquement audit anticorps pour une utilisation simultanée.

Dans un mode de réalisation particulièrement préféré, ladite composition selon l'invention est caractérisée en ce que ledit agent cytotoxique/cytostatique est choisi parmi les agents inhibiteurs ou stabilisateurs du fuseau, de préférence la vinorelbine et/ou la vinflunine et/ou la vincristine.

Afin de faciliter le couplage entre ledit agent cytotoxique et ledit anticorps selon l'invention, on pourra notamment introduire des molécules espaceurs entre les deux composés à coupler, telles que des poly(alkylènes)glycols comme le polyéthylèneglycol, ou encore des acides aminés, ou, dans un autre mode de réalisation, utiliser des dérivés actifs desdits agents cytotoxiques dans lesquels auront été introduites des fonctions capables de réagir avec ledit anticorps selon

l'invention. Ces techniques de couplage sont bien connues de l'homme de l'art et ne seront pas développées dans la présente description.

Dans un autre mode de réalisation préféré, ledit inhibiteur de l'activité tyrosine kinase des récepteurs à l'IGF-I est sélectionné dans le groupe consistant
5 en des agents naturels dérivés, des dianilinophthalimides, des pyrazolo- ou pyrrolo-pyridopyrimidines ou encore des quinazilines. De tels agents inhibiteurs sont bien connus de l'homme de l'art et décrit dans la littérature (Ciardiello F., Drugs 2000, Suppl. 1, 25-32).

Selon encore une autre forme d'exécution de l'invention, la composition
10 telle que décrite plus haut, peut également comprendre un autre composé anticorps dirigé contre le domaine extracellulaire du récepteur HER2/neu, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, destinée à la prévention et au traitement de cancer, notamment les cancers surexprimant ledit récepteur HER2/neu et le récepteur IGF-IR, comme notamment
15 le cancer du sein.

On pourra notamment se référer aux publications de Albanell et al. (J. of the National Cancer Institute, 93(24):1830-1831, 2001) et de Lu et al. (J. of the National Cancer Institute, 93(24):1852-1857, 2001) justifiant l'intérêt inattendu d'associer un anticorps anti-HER2/neu avec un anticorps anti-IGF-IR selon la
20 présente invention.

De manière particulière, ledit anticorps anti-HER2/neu de la composition selon l'invention est l'anticorps dénommé Trastuzumab (dénommé encore Herceptin).

L'invention est, sous un autre aspect, relative à une composition
25 caractérisée en ce que l'un, au moins, desdits anticorps, ou l'un de leur fragment fonctionnel, est conjugué avec une toxine cellulaire et/ou un radioélément.

De préférence, ladite toxine ou ledit radioélément est capable d'inhiber au moins une activité cellulaire de cellules exprimant le récepteur IGF-IR, de manière plus préférée capable d'empêcher la croissance ou la prolifération de
30 ladite cellule, notamment d'inactiver totalement ladite cellule.

101
72
3

De préférence encore, ladite toxine est une toxine d'entérobactéries, notamment l'exotoxine A de *Pseudomonas*.

Les radioéléments (ou radioisotopes) préférés conjugués aux anticorps employés pour la thérapie sont des radioisotopes émetteurs de rayons gamma et de préférence l'Iode¹³¹, l'Yttrium⁹⁰, l'Or¹⁹⁹, le Palladium¹⁰⁰, le Cuivre⁶⁷, le Bismuth²¹⁷ et l'Antimoine²¹¹. Les radioisotopes émetteurs de rayons bêta et alpha peuvent également être utilisés pour la thérapie.

Par toxine ou radioélément conjugué à au moins un anticorps, ou l'un de leur fragment fonctionnel, selon l'invention, on entend désigner tout moyen permettant de lier ladite toxine ou ledit radioélément audit au moins un anticorps, notamment par couplage covalent entre les deux composés, avec ou sans introduction de molécule de liaison.

Parmi les agents permettant de lier de manière chimique (covalente), électrostatique, non covalente tout ou partie des composants du conjugué, on peut citer notamment la benzoquinone, la carbodiimide et plus particulièrement l'EDC (1-Ethyl-3-[3-Diméthylaminopropyl]carbodiimide hydrochloride), la dimaléimide, l'acide dithio-bis-nitrobenzoïque (DTNB), le N-succinimidyl-S-acétyl-thioacétate (SATA), les agents pontants possédant un ou plusieurs groupements phénylazide réagissant avec les ultraviolets (U.V.) et de préférence le N-[4-(azidosalicylamino)butyl]-3'-(2'-pyridyldithio)propionamide (APDP), le N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionate (SPDP), le 6-hydrazinonicotimide (HYNIC).

Une autre forme de couplage, notamment pour les radioéléments, peut consister en l'utilisation d'un chélateur d'ions bi-fonctionnel.

Parmi ces chélates, on peut citer les chélates dérivés de l'EDTA (acide éthylènediamine-tetraacétique) ou du DTPA (acide diéthylènetriamine-pentaacétique) qui ont été développés pour lier les métaux, notamment les métaux radioactifs, et les immunoglobulines. Ainsi, le DTPA et ses dérivés peuvent être substitués par différents groupes sur la chaîne carbonée afin d'augmenter la stabilité et la rigidité du complexe ligand-métal (Krejcarek et al. (1977); Brechbiel et al. (1991); Gansow (1991); brevet US 4 831 175).

Par exemple, l'acide diéthylènetriamine-pentaacétique (DTPA) et ses dérivés, qui sont depuis longtemps largement utilisés en médecine et en biologie soit sous leur forme libre, soit sous la forme de complexe avec un ion métallique, présentent la caractéristique remarquable de former des chélates stables avec les
5 ions métalliques et être couplés avec des protéines d'intérêt thérapeutique ou diagnostique telles que des anticorps pour le développement de radioimmunoconjugués en thérapie du cancer (Meases et al., (1984) ; Gansow et al. (1990)).

De préférence également, ledit au moins un anticorps formant ledit
10 conjugué selon l'invention est choisi parmi ses fragments fonctionnels, notamment les fragments amputés de leur composante Fc tels que les fragments scFv.

La présente invention comprend en outre l'utilisation de la composition selon l'invention pour la préparation d'un médicament.

15 Plus particulièrement, selon une autre forme d'exécution, l'invention concerne l'utilisation d'un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, et/ou d'une composition pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement d'une maladie induite par une surexpression et/ou une activation anormale du récepteur IGF-IR, et/ou liée à une hyperactivation de la voie de
20 transduction du signal médié par l'interaction de IGF1 ou IGF2 avec IGF-IR.

De préférence, ladite utilisation selon l'invention est caractérisée en ce que l'administration dudit médicament n'induit pas ou peu d'effets secondaires liés à une inhibition du récepteur IR de l'insuline, c'est-à-dire à une inhibition de l'interaction du récepteur IR avec ses ligands naturels due à la présence dudit
25 médicament, notamment par une inhibition compétitive liée à la fixation dudit médicament sur l'IR.

La présente invention comprend en outre l'utilisation d'un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, de préférence humanisé, et/ou d'une composition selon l'invention pour la préparation d'un médicament destiné à
30 inhiber la transformation de cellules normales en cellules à caractère tumoral, de préférence IGF, notamment IGF1 et/ou IGF2 dépendante.

102
37

La présente invention est relative également à l'utilisation d'un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, de préférence humanisé, et/ou d'une composition selon l'invention pour la préparation d'un médicament destiné à inhiber la croissance et/ou la prolifération de cellules tumorales, de préférence IGF, notamment IGF1 et/ou IGF2 dépendante.

De manière générale, la présente invention a pour objet l'utilisation d'un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, de préférence humanisé, et/ou d'une composition selon l'invention, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de cancer de préférence exprimant l'IGF-IR et/ou de cancer présentant de préférence une hyperactivation de la voie de transduction du signal médié par l'interaction de l'IGF1 ou IGF2 avec IGF-IR, comme par exemple la surexpression de IRS1.

La présente invention a également pour objet l'utilisation d'un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, de préférence humanisé, et/ou d'une composition selon l'invention, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement du psoriasis, psoriasis dont l'hyperprolifération épidermique peut être liée à l'expression ou la surexpression de l'IGF-IR, et/ou à l'hyperactivation de la voie de transduction du signal médié par l'interaction d'IGF-IR avec ses ligands naturels (Wraight C.J. et al. Nat. Biotechnol., 2000, 18(5):521-526. Reversal of epidermal hyperproliferation in psoriasis by insulin-like growth factor I receptor antisense oligonucleotides).

Parmi les cancers qui peuvent être prévenus et/ou traités, on préfère le cancer de la prostate, les ostéosarcomes, le cancer du poumon, le cancer du sein, le cancer de l'endomètre ou le cancer du côlon ou tout autre cancer surexprimant IGF-IR.

Sous encore un autre aspect, la présente invention a pour objet une méthode de diagnostic, de préférence *in vitro*, de maladies liées à une surexpression ou une sous-expression, de préférence une surexpression du récepteur IGF-I à partir d'un échantillon biologique dont on suspecte la présence anormale en récepteur IGF-I, caractérisée en ce qu'on met en contact ledit

échantillon biologique avec un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention, ledit anticorps pouvant être, le cas échéant, marqué.

De préférence, lesdites maladies liées par la surexpression du récepteur IGF-I dans ladite méthode de diagnostic seront des cancers.

- 5 Ledit anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, peut se présenter sous forme d'immunoconjugué ou d'anticorps marqué afin d'obtenir un signal détectable et/ou quantifiable.

- Les anticorps marqués selon l'invention ou leurs fragments fonctionnels incluent par exemple des anticorps dits immunoconjugués qui peuvent être
 10 conjugués par exemple avec des enzymes telles que la peroxydase, la phosphatase alcaline, l' α -D-galactosidase, la glucose oxydase, la glucose amylase, l'anhydrase carbonique, l'acétyl-cholinestérase, le lysozyme, la malate déhydrogénase ou la glucose-6 phosphate déhydrogénase ou par une molécule comme la biotine, la digoxigénine ou la 5-bromo-désoxyuridine. Des marqueurs fluorescents peuvent
 15 être également conjugués aux anticorps ou leurs fragments fonctionnels selon l'invention et incluent notamment la fluorescéine et ses dérivés, le fluorochrome, la rhodamine et ses dérivés, la GFP (GFP pour « Green Fluorescent Protein »), le dansyl, l'umbelliférone etc. Dans de tels conjugués, les anticorps de l'invention ou leurs fragments fonctionnels peuvent être préparés par des méthodes connues de
 20 l'homme de l'art. Ils peuvent être couplés aux enzymes ou aux marqueurs fluorescents directement ou par l'intermédiaire d'un groupe espaceur ou d'un groupe de liaisons tel qu'un polyaldéhyde, comme le glutaraldéhyde, l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA), l'acide diéthylènetriaminépentaacétique (DPTA), ou en présence d'agents de couplage tels que ceux cités ci-avant pour les
 25 conjugués thérapeutiques. Les conjugués comportant des marqueurs de type fluorescéine peuvent être préparés par réaction avec un isothiocyanate.

- D'autres conjugués peuvent inclure également des marqueurs chimioluminescents tels que le luminol et les dioxétanes, des marqueurs bioluminescents tels que la luciférase et la luciférine, ou encore des marqueurs
 30 radioactifs tels que Iode¹²¹, Iode¹²⁵, Iode¹²⁶, Iode¹³³, Brome⁷⁷, Technetium^{99m}, Indium¹¹¹, Indium^{113m}, Gallium⁶⁷, Gallium⁶⁸, Ruthénium⁹⁵, Ruthénium⁹⁷,

103
74

Ruthénium¹⁰³, Ruthénium¹⁰⁵, Mercure¹⁰⁷, Mercure²⁰³, Rhénium^{99m}, Rhénium¹⁰¹, Rhénium¹⁰⁵, Scandium⁴⁷, Tellurium^{121m}, Tellurium^{122m}, Tellurium^{125m}, Thulium¹⁶⁵, Thulium¹⁶⁷, Thulium¹⁶⁸, Fluor¹⁸, Yttrium¹⁹⁹, l'Iode¹³¹. Les méthodes connues de l'homme de l'art existant pour coupler les radioisotopes thérapeutiques aux anticorps soit directement soit via un agent chélatant tel l'EDTA, le DTPA citées ci-avant peuvent être utilisées pour les radioéléments utilisables en diagnostic. On peut également citer ici le marquage avec du Na[I¹²⁵] par la méthode à la chloramine T. [Hunter W.M. et Greenwood F.C. (1962) Nature 194:495] ou encore avec le Technetium^{99m} par la technique de Crockford *et coll.* (brevet US 4 424 200) ou attaché via du DTPA comme décrit par Hnatowich (brevet US 4 479 930).

Ainsi, les anticorps, ou leurs fragments fonctionnels, selon l'invention peuvent être employés dans un procédé pour la détection et/ou la quantification d'une surexpression ou d'une sous-expression, de préférence une surexpression du récepteur IGF-I dans un échantillon biologique, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- a) la mise en contact de l'échantillon biologique avec un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention ; et
- b) la mise en évidence du complexe IGF-I/anticorps éventuellement formé.

Dans un mode de réalisation particulier, les anticorps, ou leurs fragments fonctionnels, selon l'invention, pourront être employés dans un procédé pour la détection et/ou la quantification du récepteur IGF-I dans un échantillon biologique, pour le suivi de l'efficacité d'un traitement prophylactique et/ou thérapeutique d'un cancer IGF dépendant ou encore d'un psoriasis.

Plus généralement, les anticorps, ou leurs fragments fonctionnels, selon l'invention peuvent être avantageusement mis en oeuvre dans toute situation où l'expression du récepteur IGF-I doit être observée de manière qualitative et/ou quantitative.

De préférence, l'échantillon biologique est constitué par un fluide biologique, tel que le sérum, le sang total, des cellules, un échantillon de tissu ou des biopsies d'origine humaine.

5 Toute procédure ou test classique peut être mis en oeuvre pour réaliser une telle détection et/ou dosage. Ledit test peut être un test par compétition ou par sandwich, ou tout test connu de l'homme de l'art dépendant de la formation d'un complexe immunitaire de type anticorps-antigène. Suivant les applications selon l'invention, l'anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels peut être immobilisé ou marqué. Cette immobilisation peut être réalisée sur de nombreux supports
10 connus de l'homme de l'art. Ces supports peuvent notamment inclure le verre, le polystyrène, le polypropylène, le polyéthylène, le dextran, le nylon, ou des celluloses naturelles ou modifiées. Ces supports peuvent être soit solubles ou insolubles.

A titre d'exemple, une méthode préférée met en jeu des processus
15 immunoenzymatiques selon la technique ELISA, par immunofluorescence, ou radio-immunologique (RIA) ou équivalent.

Ainsi, la présente invention comprend également les kits ou nécessaires pour la mise en oeuvre d'une méthode de diagnostic de maladies induites par une surexpression ou une sous-expression du récepteur IGF-I ou pour la mise en oeuvre
20 d'un procédé pour la détection et/ou la quantification d'une surexpression ou d'une sous-expression du récepteur IGF-I dans un échantillon biologique, de préférence une surexpression dudit récepteur, caractérisé en ce que ledit kit ou nécessaire comprend les éléments suivants :

a) un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'invention :
25 b) éventuellement, les réactifs pour la constitution du milieu propice à la réaction immunologique ;

c) éventuellement, les réactifs permettant la mise en évidence des complexes IGF-IR/anticorps produits par la réaction immunologique.

L'invention est en outre relative à l'utilisation d'une composition comme
30 produit de combinaison selon l'invention, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de cancer, notamment des cancers pour

104 /
77

lesquels ledit agent cytotoxique ou ledit anticorps anti-HER2/neu est généralement prescrit et, notamment, pour lesquels cancers, les cellules tumorales expriment ou surexpriment le récepteur IGF-I.

5 L'invention a également pour objet l'utilisation d'un anticorps selon l'invention, pour la préparation d'un médicament destiné au ciblage spécifique d'un composé biologiquement actif vers des cellules exprimant ou surexprimant le récepteur IGF-I.

10 On entend désigner ici par composé biologiquement actif tout composé capable de moduler, notamment d'inhiber, l'activité cellulaire, en particulier leur croissance, leur prolifération, la transcription ou la traduction de gène.

15 L'invention a aussi pour objet un réactif de diagnostic *in vivo* comprenant un anticorps selon l'invention, ou l'un de ses fragments fonctionnels, de préférence marqué, notamment radiomarké, et son utilisation en imagerie médicale, en particulier pour la détection de cancer lié à l'expression ou à la surexpression par une cellule du récepteur IGF-I.

L'invention est également relative à une composition comme produit de combinaison ou à un conjugué anti-IGF-IR/toxine ou radioélément, selon l'invention, à titre de médicament.

20 De préférence, ladite composition comme produit de combinaison ou ledit conjugué selon l'invention sera additionné d'un excipient et/ou d'un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

25 Dans la présente description, on entend désigner par véhicule pharmaceutiquement acceptable, un composé ou une combinaison de composés entrant dans une composition pharmaceutique ne provoquant pas de réactions secondaires et qui permet par exemple la facilitation de l'administration du ou des composés actifs, l'augmentation de sa durée de vie et/ou de son efficacité dans l'organisme, l'augmentation de sa solubilité en solution ou encore l'amélioration de sa conservation. Ces véhicules pharmaceutiquement acceptables sont bien connus et seront adaptés par l'homme de l'art en fonction de la nature et du mode
30 d'administration du ou des composés actifs choisis.

De préférence, ces composés seront administrés par voie systémique, en particulier par voie intraveineuse, par voie intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou sous-cutanée, ou par voie orale. De manière plus préférée, la composition comprenant les anticorps selon l'invention, sera administrée à
 5 plusieurs reprises, de manière étalée dans le temps.

Leurs modes d'administration, posologies et formes galéniques optimaux peuvent être déterminés selon les critères généralement pris en compte dans l'établissement d'un traitement adapté à un patient comme par exemple l'âge ou le poids corporel du patient, la gravité de son état général, la tolérance au traitement
 10 et les effets secondaires constatés.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaissent dans la suite de la description à travers les exemples et les figures dont les légendes sont ci-après:

15 **Figure 1 :** représente l'évaluation in vitro des anticorps anti-IGF-1R dans le modèle MCF-7

De gauche à droite en abscisse, chaque barre d'histogramme représente:

- cellules seules, + IGF-1 à 1 ng/ml, + IGF-1 à 10 ng/ml, + IGF-1 à 50 ng/ml;
- alphaIR3, alphaIR3 + IGF-1 à 1 ng/ml, alphaIR3 + IGF-1 à 10 ng/ml, alphaIR3
 20 + IGF-1 à 50 ng/ml;
- 2D10, 2D10 + IGF-1 à 1 ng/ml, 2D10 + IGF-1 à 10 ng/ml, 2D10 + IGF-1 à 50 ng/ml;
- 2F2, 2F2 + IGF-1 à 1 ng/ml, 2F2 + IGF-1 à 10 ng/ml, 2F2 + IGF-1 à 50 ng/ml;
- 7G3, 7G3 + IGF-1 à 1 ng/ml, 7G3 + IGF-1 à 10 ng/ml, 7G3 + IGF-1 à 50 ng/ml;
- 25 - 21E3, 21E3 + IGF-1 à 1 ng/ml, 21E3 + IGF-1 à 10 ng/ml, 21E3 + IGF-1 à 50 ng/ml;
- 12D5, 12D5 + IGF-1 à 1 ng/ml, 12D5 + IGF-1 à 10 ng/ml, 12D5 + IGF-1 à 50 ng/ml;
- 12B1, 12B1 + IGF-1 à 1 ng/ml, 12B1 + IGF-1 à 10 ng/ml, 12B1 + IGF-1 à 50
 30 ng/ml;

105
36

- 13F5, 13F5 + IGF-1 à 1 ng/ml, 13F5 + IGF-1 à 10 ng/ml, 13F5 + IGF-1 à 50 ng/ml.;

Figures 2 à 4 : représentent l'évaluation in vivo des anticorps anti-IGF-1R sur les cellules DU145.

5

Exemple 1 : Génération d'anticorps monoclonaux dirigés contre IGF-1R

Les hybridomes ont été générés par fusion des splénocytes d'une souris BALB/c immunisée avec un IGF-1R humain recombinant hétérotétramérique soluble $\alpha 2\text{-}\beta 2$ (R&D System, Minneapolis, USA) et la lignée de cellules du myélome SP2/0-Ag14. Les anticorps murins obtenus (AcM) ont d'abord été criblés par ELISA et analysés par FACS sur les cellules MCF-7. Puis, un criblage final sur les cellules Sf9-IGF-1r contre les Sf9-IR a été réalisé pour éliminer les anticorps reconnaissant à la fois IGF-1 et IR. Les AcM sélectionnés (positifs par ELISA et reconnaissant le récepteur de type sauvage sur les cellules MCF-7) ont été produits sous forme de fluides ascitiques et purifiés par chromatographie avec la protéine A avant d'être testés *in vitro* et/ou *in vivo* comme l'indique le tableau 1.

TABEAU 1 : Sélection d'anticorps monoclonaux anti-IGF-1R

	Analyses FACSCAN			Isotype	Activité In vitro	Activité In vivo
	MCF-7	Sf9 IGF-IR+	Sf9 IR+		MCF-7	DU145
2D10	+	+	+	IgG1 κ	+	+
2F2	+	-	-	IgG1 κ	+/-	+/-
6E5	+	+	-	IgG1 κ	+/-	+
7A4	+	+	-	IgG1 κ	-	-
7G3	+	-	-	IgG1 λ	-	-
9E5	+	+	-	IgG1 κ	+/-	-
9F5	+	+	+	Nd	Nd	Nd

10B7	+	-	-	Nd	Nd	Nd
11H6	+	+	-	IgE	Nd	-
12B1	+	+	-	IgG1 κ	+	-
12D5	+	+	-	IgG1 κ	+	Nd
12D8	+	Nd		Nd	Nd	Nd
13F5	+	+	Nd	IgG1 κ	+	+
13G10	+	+/-	-	IgG1 λ	+/-	Nd
15B9	+	+	-	IgG1 κ	+/-	-
16A12	+	-	+	IgG1 κ	+/-	-
9D5	+	Nd	-	IgG1 κ	Nd	Nd
13G5	+		Nd	IgG1 κ	Nd	+
14H1	-	Nd	+	IgG1 κ	Nd	Nd
15H1	-	Nd	Nd	IgG1 κ	Nd	Nd
18B5	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
20D1	nd	Nd	Nd	IgG1 κ	Nd	-
21B3	-	-	-	Nd	Nd	Nd
13F10	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
14A1	-	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
2B10	+	-	-	IgG1 κ	-	-
3A9	+	+/-	-	IgG1 κ	Nd	Nd
3C9	+		-	IgG1 κ	-	-
4G4	+		-	IgG1 κ	+	Nd
6F4	+	-	-	IgG1 κ	+/-	-
9E10	+	+/-	-	IgG1 λ	+/-	Nd
14D7	+	+	-	IgG1 κ	Nd	Nd
21E3	+	-	-	IgG2a	+/-	nd

106
27**Exemple 2 : Activité *in vitro* d'anticorps anti-IGF-1R.****Procédé :**

Des cellules MCF-7 de l'ATCC ont été mises en culture dans un milieu
5 RPMI sans rouge de phénol (Invitrogen Corporation, Scotland, UK), à 10 % de
sérum de veau fœtal (FCS) (Invitrogen Corporation) et 1 % de L-Glutamine
(Invitrogen Corporation). Les cellules MCF-7 ont été placées sur des plaques de
culture tissulaire de 96 puits à une densité de 5×10^4 cellules/puits dans un milieu
sans sérum. Vingt-quatre heures après, une dose d'IGF1 de 1 à 50 ng/ml a été
10 ajoutée au milieu en absence ou en présence à une concentration finale de 5 µg/ml
de chaque anticorps à tester. Trois jours plus tard, les cellules ont été stimulées
avec 0,5 µCi de [3 H]thymidine (Amersham Biosciences AB, Uppsala, Sweden)
pendant 16 heures. La valeur de [3 H]thymidine incorporée à l'ADN insoluble dans
l'acide trichloracétique a été quantifiée par comptage à scintillation liquide. Les
15 résultats sont exprimés sous forme d'indice de prolifération (cpm des cellules plus
IGF1 plus anticorps / cpm des cellules plus anticorps seulement).

Résultats :

L'évaluation *in vitro* correspond au premier criblage des AcM en terme
20 d'activité mitogénique. Pour ces tests de vérification, les anticorps générés,
produits sous forme de fluides ascitiques, ont été ajoutés aux cellules MCF-7 en
même temps que l'IGF1 et comparés à l'AcM α IR3 commercialement disponible
pour sélectionner des anticorps au moins aussi efficaces que ce dernier. Les AcM
positifs (5 AcM) décrits comme (+) dans le tableau 2* de la réponse précédente
25 sont ceux qui donnent des indices de prolifération <5 lorsque les cellules ont été
stimulées avec la dose la plus élevée d'IGF1 (50 ng/ml). La figure 2 montre
l'activité *in vitro* de quatre inhibiteurs forts *in vitro* sur six (2D10, 12D5, 12B1,
13F5). Les AcM 2F2 et 21E3 ont été considérés comme a ($\pm$)* Mab ($5 <$ indice de
prolifération <15 pour la plus forte concentration d'IGF1) ; 7G3 et 2B10 ont été
30 considérés comme des anticorps non-neutralisant (indice de prolifération >15). Il
est intéressant de noter que 21E3 est le seul AcM d'isotype IgG2.

Exemple 3 : Activité *in vivo* d'anticorps anti-IGF-1R**Procédé :**

Des cellules DU145 de l'ATCC ont été mises en culture dans un milieu
5 RPMI (Invitrogen Corporation, Scotland, UK), à 10 % de sérum de veau fœtal
(FCS) (Invitrogen Corporation) et 1 % de L-Glutamine (Invitrogen Corporation).
Les cellules ont été divisées deux jours avant la prise de greffe pour être en phase
de croissance exponentielle. Deux millions de cellules DU145 ont été greffées en
PBS sur des souris nudes suisses. Vingt-quatre heures après implantation, les
10 animaux ont été répartis en groupes de 6 souris. Les souris ont été traitées en s.c. à
l'opposé de la tumeur avec 200 µg de chaque anticorps à tester, 3 fois par semaine.
Dans le groupe contrôle, les souris ont été traitées soit avec un isotype contrôle
murin (EC2) lors du premier criblage, soit du PBS lors des criblages suivants, la
première expérience ayant démontré qu'aucune différence de croissance tumorale
15 n'avait été observée entre ces 2 groupes de souris. Le volume de la tumeur a été
mesuré une fois par semaine et calculé selon la formule : $\pi/6 \times \text{longueur} \times$
largeur $\times$ hauteur.

Résultats :

20 Trois expériences *in vivo* ont été réalisées pour tester un panel d'AcM. La
figure 3 montre que 13F5, 2D10, 6E5 et 13G5 inhibent de façon significative la
croissance *in vivo* des cellules DU145. Les analyses statistiques (test de Mann et
Whitney) sont retranscrites dans le tableau 2. L'AcM 13G5 a reconnu IGF-1R et
IR et a été rejeté.

25

Tableau 2 : Analyse statistique des données *in vivo*

107
38

Premier criblage		D16	D23	D29	D36	D43
PBS/13F5	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,47	p=0,086	p=0,046	p=0,015	p=0,023

Deuxième criblage		D12	D20	D26	D30
PBS/2D10	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,0041	p=0,0017	p=0,0027	p=0,0027
PBS/6E5	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,027	p=0,013	p=0,0092	p=0,019
PBS/12B1	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,11	p=0,11	p=0,067	p=0,11
PBS/2F2	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,18	p=0,067	p=0,050	p=0,14

Troisième criblage		D12	D20	D26	D33
PBS/13G5	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,012	p=0,028	p=0,032	p=0,032
PBS/16A12	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,063	p=0,087	p=0,19	p=0,11

REVENDICATIONS

1. Anticorps isolé, ou l'un de ses fragments fonctionnels, ledit anticorps ou l'un de sesdits fragments étant capable de se lier au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline IGF-IR et, le cas échéant, d'inhiber la fixation naturelle de ses ligands IGF1 et/ou IGF2 et/ou capable d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, caractérisé en ce qu'il comprend :
- 5
- à une chaîne légère comprenant au moins une région CDR déterminant la complémentarité choisie parmi les CDRs de séquence SEQ ID No. 1, 2 ou 3, ou
 - 10 au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 1, 2 ou 3 ; et/ou
 - une chaîne lourde comprenant au moins un CDR choisi parmi les CDRs de séquence SEQ ID Nos. 4, 5 et 6, ou au moins un CDR dont la séquence présente
 - 15 au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 4, 5 et 6.
2. Anticorps selon la revendication 1, dénommé 13F5 et caractérisé en ce qu'il comprend une chaîne lourde de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 20 et en ce qu'il comprend en outre une chaîne légère de
- 20
- séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 19.
3. Hybridome murin capable de sécréter un anticorps selon l'une des revendications 1 ou 2.
4. Hybridome murin selon la revendication 3 déposé à la CNCM (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes), Institut Pasteur, Paris (France) le 25
- 25
- mars 2004 sous le numéro I-3193.
5. Anticorps isolé, ou l'un de ses fragments fonctionnels, ledit anticorps ou l'un de sesdits fragments étant capable de se lier au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline IGF-IR et, le cas échéant, d'inhiber la fixation naturelle de ses ligands IGF1 et/ou IGF2 et/ou capable d'inhiber
- 30
- spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, caractérisé en ce qu'il comprend :

108
24**REVENDICATIONS**

1. Anticorps isolé, ou l'un de ses fragments fonctionnels, ledit anticorps ou l'un de sesdits fragments étant capable de se lier au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline IGF-IR et, le cas échéant, d'inhiber la fixation naturelle de ses ligands IGF1 et/ou IGF2 et/ou capable d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, caractérisé en ce qu'il comprend :
- à une chaîne légère comprenant au moins une région CDR déterminant la complémentarité choisie parmi les CDRs de séquence SEQ ID No. 1, 2 ou 3, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 1, 2 ou 3 ; et/ou
 - une chaîne lourde comprenant au moins un CDR choisi parmi les CDRs de séquence SEQ ID Nos. 4, 5 et 6, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 4, 5 et 6.
2. Anticorps selon la revendication 1, dénommé 13F5 et caractérisé en ce qu'il comprend une chaîne lourde de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 20 et en ce qu'il comprend en outre une chaîne légère de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 19.
3. Hybridome murin capable de sécréter un anticorps selon l'une des revendications 1 ou 2.
4. Hybridome murin selon la revendication 3 déposé à la CNCM (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes), Institut Pasteur, Paris (France) le 25 mars 2004 sous le numéro I-3193.
5. Anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, caractérisé en ce que ledit anticorps est sécrété par l'hybridome selon la revendication 4.
6. Anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon la revendication 5, caractérisé en ce que ledit anticorps est un anticorps chimérique et comprend en outre les régions constantes de chaîne légère et de chaîne lourde dérivées d'un anticorps d'une espèce hétérologue à la souris.
7. Anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon la revendication 6, caractérisé en ce que ladite espèce hétérologue est l'Homme.

- une chaîne légère comprenant au moins une région CDR déterminant la complémentarité choisie parmi les CDRs de séquence SEQ ID No. 7, 8 ou 9, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 7, 8 ou 9 ; et/ou
- 5 - une chaîne lourde comprenant au moins un CDR choisi parmi les CDRs de séquence SEQ ID Nos. 10, 11 et 12, dans laquelle le CDR de séquence SEQ ID No. 11 peut être remplacé par le CDR de séquence SEQ ID No. 26, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 %, de préférence 85 %, 90 %, 95 % et 98 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No.
- 10 10, 11 (ou 26) et 12.
- 6. Anticorps selon la revendication 5, dénommé 12D5 et caractérisé en ce qu'il comprend une chaîne lourde de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 22 ou 23 et en ce qu'il comprend en outre une chaîne légère de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 21.
- 15 7. Hybridome murin capable de sécréter un anticorps selon l'une des revendications 5 ou 6.
- 8. Hybridome murin selon la revendication 7 déposé à la CNCM, Institut Pasteur, Paris, le 8 avril 2004 sous le numéro I-3195.
- 9. Anticorps isolé, ou l'un de ses fragments fonctionnels, ledit anticorps ou
- 20 l'un de sesdits fragments étant capable de se lier au récepteur humain du facteur de croissance I apparenté à l'insuline IGF-IR et, le cas échéant, d'inhiber la fixation naturelle de ses ligands IGF1 et/ou IGF2 et/ou capable d'inhiber spécifiquement l'activité tyrosine kinase dudit récepteur IGF-IR, caractérisé en ce qu'il comprend :
- 25 - une chaîne légère comprenant au moins une région CDR déterminant la complémentarité choisie parmi les CDRs de séquence SEQ ID No. 13, 14 ou 15, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence SEQ ID No. 13, 14 ou 15 ; et/ou
- une chaîne lourde comprenant au moins un CDR choisi parmi les CDRs de
- 30 séquence SEQ ID Nos. 16, 17 et 18, ou au moins un CDR dont la séquence présente au moins 80 % d'identité après alignement optimal avec la séquence

109
X

8. Composition comprenant à titre de principe actif un composé consistant en un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'une des revendications 1, 2 ou 5 à 7, ou produit par l'hybridome selon l'une des revendications 3 et 4.

5 9. Composition selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle comprend, en outre, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps un agent cytotoxique/cytostatique et/ou un inhibiteur de l'activité tyrosine kinase des récepteurs à l'IGF-I et/ou à l'EGF.

10. Composition selon l'une des revendications 8 ou 9, à titre de médicament.

10 11. Utilisation d'un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'une des revendications 1, 2 ou 5 à 7, ou produit par l'hybridome selon l'une des revendications 3 et 4, ou d'une composition selon l'une quelconque des revendications 8 à 10, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement d'une maladie liée à une surexpression et/ou une activation anormale du récepteur IGF-I, et/ou liée à une hyperactivation de la voie de transduction du signal médié par
15 l'interaction de l'IGF1 ou IGF2 avec IGF-IR.

12. Utilisation selon la revendication 11 pour la préparation d'un médicament destiné à inhiber la transformation de cellules normales en cellules à caractère tumoral, de préférence IGF, notamment IGF1 et/ou IGF2, dépendante.

20 13. Utilisation selon la revendication 11 pour la préparation d'un médicament destiné à inhiber la croissance et/ou la prolifération de cellules tumorales, de préférence IGF, notamment IGF1 et/ou IGF2, dépendante.

14. Utilisation selon l'une des revendications 11 à 13, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de cancer.

25 15. Utilisation selon la revendication 14, caractérisée en ce que ledit cancer est un cancer choisi parmi le cancer de la prostate, les ostéosarcomes, le cancer du poumon, le cancer du sein, le cancer de l'endomètre ou le cancer du côlon.

16. Utilisation selon l'une des revendications 11 à 12, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement du psoriasis.

30 17. Méthode de diagnostic *in vitro* de maladies induites par une surexpression ou une sousexpression du récepteur IGF-I à partir d'un échantillon biologique dont on suspecte la présence anormale en récepteur IGF-I, caractérisée en ce

SEQ ID No. 16, 17 et 18.

10. Anticorps selon la revendication 9, dénommé 2D10 et caractérisé en ce qu'il comprend une chaîne lourde de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 25 et en ce qu'il comprend en outre une chaîne légère de séquence comprenant la séquence d'acide aminé SEQ ID No. 24.

11. Hybridome murin capable de sécréter un anticorps selon l'une des revendications 9 ou 10.

12. Hybridome murin selon la revendication 11 déposé à la CNCM, Institut Pasteur, Paris, le 13 mars 2004 sous le numéro I-3214.

10 13. Anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, caractérisé en ce que ledit anticorps est sécrété par l'hybridome selon la revendication 4, 8 ou 12.

14. Anticorps ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon la revendication 13, caractérisé en ce que ledit anticorps est un anticorps chimérique et comprend en outre les régions constantes de chaîne légère et de chaîne lourde dérivées d'un anticorps d'une espèce hétérologue à la souris.

15. Anticorps chimérique, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon la revendication 14, caractérisé en ce que ladite espèce hétérologue est l'Homme.

16. Hybridome murin déposé à la CNCM, Institut Pasteur, Paris, le 1^{er} juillet 2004 sous le numéro I-3249.

20 17. Composition comprenant à titre de principe actif un composé consistant en un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon l'une des revendications 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 à 15 ou produit par l'hybridome selon les revendications 3 et 4, 7 et 8, 11 et 12 ou 16.

18. Composition selon la revendication 17, caractérisée en ce qu'elle comprend, en outre, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, un anticorps, un agent cytotoxique/cytostatique et/ou un inhibiteur de l'activité tyrosine kinase respectivement des récepteurs à l'IGF-I et/ou à l'EGF.

19. Composition selon l'une des revendications 17 ou 18, à titre de médicament.

20. Utilisation d'un anticorps, ou l'un de ses fragments fonctionnels, selon

110
H

qu'on met en contact ledit échantillon biologique avec un anticorps selon l'une des revendications 1, 2 ou 5 à 7, ou produit par l'hybridome selon les revendications 3 et 4, ledit anticorps pouvant être, le cas échéant, marqué.

l'une des revendications 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 à 15 ou produit par l'hybridome selon les revendications 3 et 4, 7 et 8, 11 et 12 ou 16 et/ou d'une composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 19 pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement d'une maladie liée à une surexpression et/ou une activation anormale du récepteur IGF-I, et/ou liée à une hyperactivation de la voie de transduction du signal médié par l'interaction de l'IGF1 ou IGF2 avec IGF-IR.

21. Utilisation selon la revendication 20 pour la préparation d'un médicament destiné à inhiber la transformation de cellules normales en cellules à caractère tumoral, de préférence IGF, notamment IGF1 et/ou IGF2, dépendante.

22. Utilisation selon la revendication 20 pour la préparation d'un médicament destiné à inhiber la croissance et/ou la prolifération de cellules tumorales, de préférence IGF, notamment IGF1 et/ou IGF2, dépendante.

23. Utilisation selon l'une des revendications 20 à 22, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de cancer.

24. Utilisation selon la revendication 23, caractérisée en ce que ledit cancer est un cancer choisi parmi le cancer de la prostate, les ostéosarcomes, le cancer du poumon, le cancer du sein, le cancer de l'endomètre ou le cancer du côlon.

25. Utilisation selon l'une des revendications 20 à 22, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement du psoriasis.

26. Méthode de diagnostic *in vitro* de maladies induites par une surexpression ou une sous-expression du récepteur IGF-I à partir d'un échantillon biologique dont on suspecte la présence anormale en récepteur IGF-I, caractérisée en ce qu'on met en contact ledit échantillon biologique avec un anticorps selon l'une des revendications 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 à 15 ou produit par l'hybridome selon les revendications 3 et 4, 7 et 8, 11 et 12 ou 16, ledit anticorps pouvant être, le cas échéant, marqué.

111
~~42~~

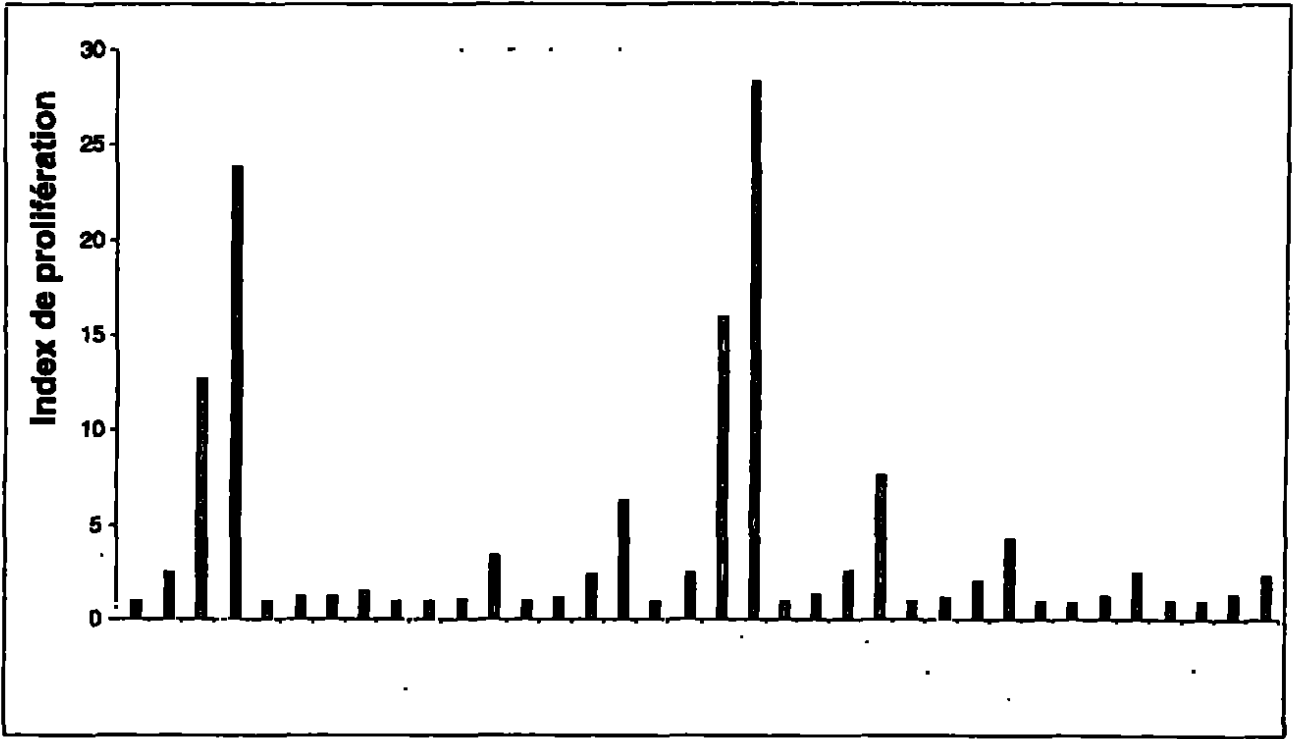


FIGURE 1

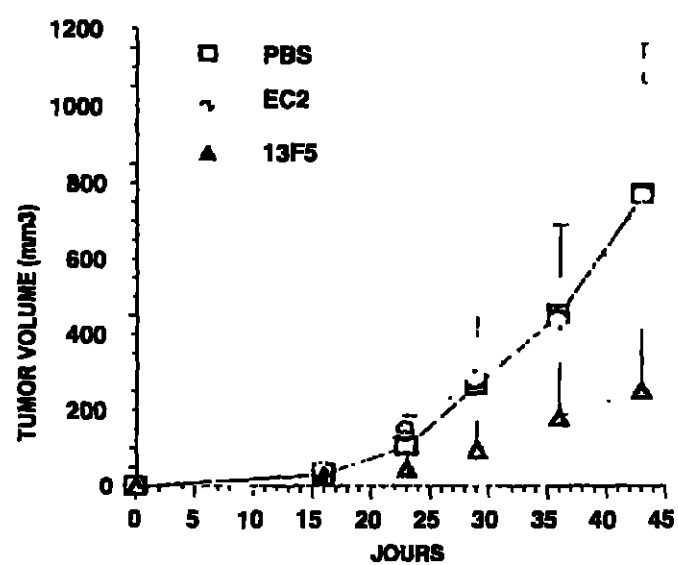


FIGURE 2

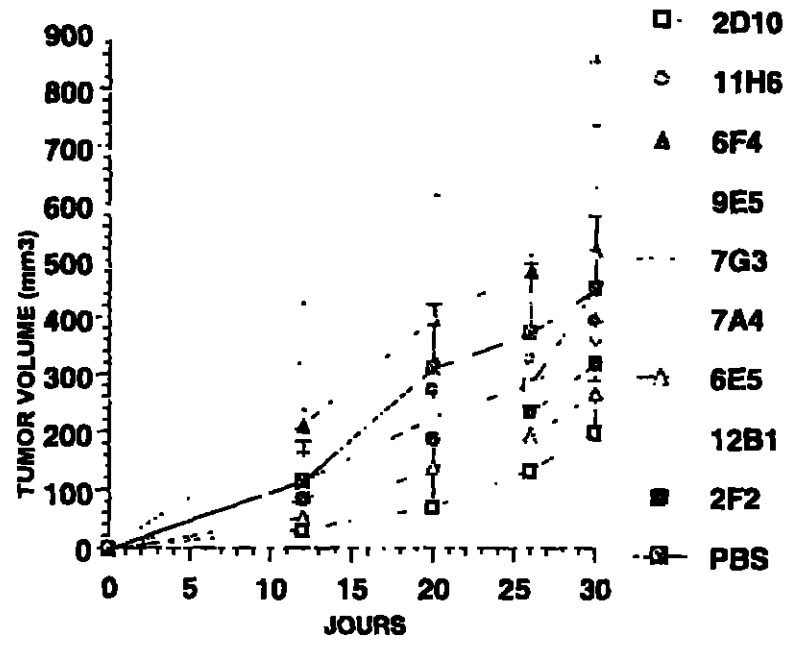


FIGURE 3

3/3

11247

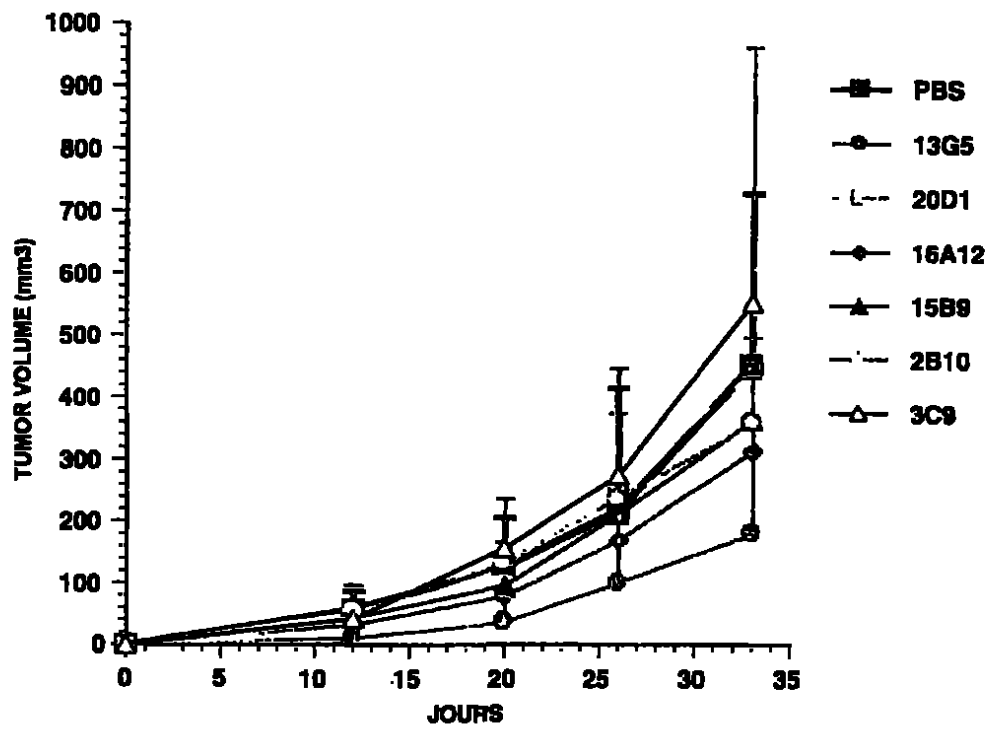


FIGURE 4

LISTE DE SEQUENCES

<110> Pierre Fabre Médicament

<120> Nouveaux anticorps anti-IGF-IR et leurs applications

<130> D22514 - FR

<160> 26

<170> Patent?n version 3.1

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

Arg	Ser	Ser	Gln	Thr	Ile	Ile	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Glu
1				5					10					15	

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser
1				5		

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

Phe	Gln	Gly	Ser	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe
1				5				10	

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Asp	Tyr	Trp	Met	Asn
1				5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

113
44

<400> 5

Leu Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Leu Asp Gln Asn Phe Tyr
1 5 10 15

Asp .

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Ser Val Ile Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Trp Tyr Phe Asp
1 5 10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Lys Ala Ser Gln Asn Val Val Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

His Gln Tyr Asn Asn Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

Glu Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 11
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 11

Val Ile Trp Gly Gly Arg Asp Thr Tyr Tyr His Ser Pro Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 12
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 12

His Glu Gly Met Asp Tyr
 1 5

<210> 13
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 13

Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Asn
 1 5 10

<210> 14
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 14

Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro
 1 5

<210> 15
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 15

Leu Gln Ser Asp Lys Met Pro Leu Thr
 1 5

<210> 16
 <211> 5
 <212> PRT

114/
X

<213> Mus musculus

<400> 16

Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 17

Ser Ile Gly Ser Ala Gly Tyr Ile His Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

Glu Gly Gly Leu Val Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 19

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 19

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Thr Ile Ile His Ser
20 25 30Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 20

<211> 123

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 20

Gln Ala Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Val Leu Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Ser Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Lys Arg Arg Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Ile
 35 40 45
 Gly Leu Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Leu Asp Gln Asn Phe
 50 55 60
 Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Phe Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Ser Val Ile Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Trp Tyr Phe Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 21

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 21

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Val Thr Asn
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Pro Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys His Gln Tyr Asn Asn Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 22

<211> 114

115
46

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 22

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Glu Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Gly Arg Asp Thr Tyr Tyr His Ser Pro Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys His Glu Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 23

<211> 114

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 23

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Glu Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr His Ser Pro Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys His Glu Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 24
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 24

```

Glu Thr Thr Val Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ala Thr Gly
1          5          10          15

Glu Lys Val Thr Ile Arg Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
          20          25          30

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Pro Pro Lys Leu Leu Ile
          35          40          45

Ser Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser
          50          55          60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Val Leu Thr Ile Glu Asn Thr Leu Ser
65          70          75          80

Glu Asp Val Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Lys Met Pro Leu
          85          90          95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
          100          105

```

<210> 25
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 25

```

Glu Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Ile Leu Val Lys Pro Gly Gly
1          5          10          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
          20          25          30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
          35          40          45

Ala Ser Ile Gly Ser Ala Gly Tyr Ile His Tyr Pro Asp Ser Val Lys
          50          55          60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ile Leu Tyr Leu
65          70          75          80

Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
          85          90          95

Arg Glu Gly Gly Leu Val Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
          100          105          110

Val Thr Val Ser Ala
          115

```

116
~~4X~~

<210> 26
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 26

Val	Ile	Trp	Gly	Gly	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	His	Ser	Pro	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	



26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

INPI DIRECT 0 825 83 83 87

0 15 / TIC / min

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11235*03

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° ...1/...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

INV

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DS 113 0 W / 20003

Vos références pour ce dossier (facultatif)		241563 D22514 MIP 6408371	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL			
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères en espaces maximum) NOUVEAUX ANTICORPS ANTI-IGF-1R ET LEURS UTILISATIONS			
LE(S) DEMANDEUR(S) : PIERRE FABRE MEDICAMENT : 45, place Abel Gance 92100 BOULOGNE-BILLANCOURT FRANCE			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :			
[1] Nom		GOETSCH Liliane	
Prénoms			
Adresse	Rue	15, route de Cluses 74130 AYZE FRANCE	
	Code postal et ville	[] [] [] [] [] []	
Société d'appartenance (facultatif)			
[2] Nom		CORVAIA Nathalie	
Prénoms			
Adresse	Rue	Résidence Les Chênes 2 rue des Chênes 74160 St JULIEN en	
	Code postal et ville	GENEVOIS FRANCE	
Société d'appartenance (facultatif)			
[3] Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville	[] [] [] [] [] []	
Société d'appartenance (facultatif)			
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)			
[Signature] 921169			

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.
Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

117

**TRADUCCIÓN DEL FRANCES AL ESPAÑOL de la Solicitud de Patente de LA
República Francesa No.0408379 relacionada con:**

ANTICUERPOS ANTI-IGF-IR NOVEDOSOS Y USOS DE LOS MISMOS

**ANEXOS. La Solicitud de Patente de la República Francesa No. 0408379 arriba
mencionada y Certificación del Director General del Instituto nacional de la
propiedad industrial.**

INPI

Instituto Nacional de la Propiedad Intelectual

PATENTE DE INVENCION

CERTIFICADO DE UTILIDAD – CERTIFICADO DE ADICION

COPIA OFICIAL

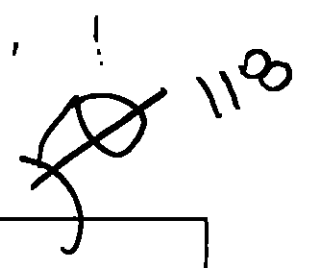
**El Director general del Instituto Nacional de la Propiedad Industrial certifica que el
documento anexo a este es la copia certificada de acuerdo con una solicitud de
título de propiedad industrial presentado en el Instituto.**

Hecho en París, el 26 de julio de 2005

**Por el Director general del Instituto
nacional de la propiedad intelectual
El jefe del Departamento de Patentes**

(Firma)

Martin PLANCHE



INPI 28 bis, rue de Saint Pétersbourg – 75800 Paris Cedex 08 Para Informar : INPI DIRECT N° de Indica 0 825 83 85 87 Telecopla: 33 (0)1 53 04 52 65	Patente de Invención Certificado de Utilidad Código de la prpopiedad intelectual – Libro IV Solicitud de Expedición página 1/2 <i>Esta impresión debe cumplir con un sello legible de notario</i>												
Entrega de Documentos Fecha: 28 de julio de 2004 En: 75 INPI Paris 34 SP N° de Registro: 0408379 Nacional otorgado por el INPI fecha de presentación de la solicitud Al INPI 29 de julio de 2004 Su numero de expediente de referencia (abogado) 241563 D22514 MIP	1 NOMBRE Y DIRECCION DEL SOLICITANTE O DEL AGENTE A QUIEN DEBE ENVIARSE LA CORRESPONDENCIA Cabinet REGIMBEAU 20, rue de Caselles 75847 PARIS CEDEX 17 FRANCIA												
Confirmación de la depósito por la copia	☐ N° atribuido por el INPI a la copia												
2 Naturaleza de la solicitud Solicitud de patente Solicitud de certificado de utilidad Solicitud de división	Señale uno de los 4 casos siguientes ☐ ☐ ☐												
Solicitud de patente original o solicitud de certificado de utilidad original Cambio de una solicitud de patente europea Solicitud de patente original	<table style="width: 100%;"> <tr> <td>N°</td> <td>Fecha</td> </tr> <tr> <td>N°</td> <td>Fecha</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> </tr> <tr> <td>N°</td> <td>Fecha</td> </tr> </table>	N°	Fecha	N°	Fecha	☐		N°	Fecha				
N°	Fecha												
N°	Fecha												
☐													
N°	Fecha												
3 Título de la invención (máximo 200 caracteres con espacios) ANTICUERPOS NOVEDOSOS ANTI-IGF-IR Y METODOS DE USO													
4 Declaración de Prioridad o reivindica el beneficio de la fecha de depósito de una solicitud francesa anterior	<table style="width: 100%;"> <tr> <td>Pais u organización</td> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>Fecha</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Pais u Organización</td> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>Fecha</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Pais u organización</td> <td>N°</td> </tr> <tr> <td>Fecha</td> <td></td> </tr> </table> ☐ Si hay otras prioridades señale la casilla y utilice el impreso "Suite"	Pais u organización	N°	Fecha		Pais u Organización	N°	Fecha		Pais u organización	N°	Fecha	
Pais u organización	N°												
Fecha													
Pais u Organización	N°												
Fecha													
Pais u organización	N°												
Fecha													
Solicitante (Señale una de las 2 casillas)	☒ Persona moral ☐ Persona natural												
Nombre o denominación social Apellidos Forma jurídica N° SIREN Código APE-NAF Domicilio u Oficina central Nacionalidad N° de teléfono (abogado) Dirección electrónica (abogado)	PIERRE FABRE MEDICAMENT SOCIEDAD ANONIMA 326118502 45, place Abel Gance 92100 BOULOGNE-BILLANCOURT FRANCIA Francia Francesa N° de telex (abogado) ☐ Si hay más de un solicitante, señale la casilla y utilice el impreso "Suite"												

INPI

PATENTE DE INVENCION
CERTIFICADO DE UTILIDAD
SOLICITUD DE ENTREGA

página 2/2

Entrega de Documentos Fecha: 29 de julio de 2004 En: 75 INPI Paris 34 SP	
N° de Registro: 0408379 Nacional otorgado por el INPI fecha de presentación de la solicitud Al INPI 29 de julio de 2004	
6 Agente (si lo hay) 241563 D22514MIP	
Nombre Apellido Firma o Sociedad Nacionalidad N° de Poder permanente y/o del contrato Cabinet REGIMBEAU	
Domicilio u Oficina central	Calle Código postal País 20, rue de Caselles 75847 PARIS CEDEX 7
Nacionalidad N° de teléfono (abogado) N° de telex (abogado) Dirección electrónica (abogado)	01 44 29 35 00 01 44 29 35 99 info@regimbeau.fr
7 Inventor(es) Los inventores son necesariamente personas naturales	
Los solicitantes y los inventores son las mismas personas ☐ SI ☒ No: En este caso llene el formulario de Designación de Inventor(es)	
8. Informe de Búsqueda Solamente para una solicitud de patente (incluyendo división y transformación)	
Presentado al tiempo o presentado después ☒ ☐ La elección se debe hacer obligatoriamente con la presentación (ver Notas explicativas del Encabezado 8)	
9 Reducción en la tarifa de los cánones Solamente para las personas naturales ☐ Requerido para la primera vez por esta invención (adjuntar opinión de no tributación) ☐ Obtenido antes de esta presentación para esta invención (adjuntar una copia de la decisión de admisión de la asistencia gratuita o indicar referencia)	
10 Secuencia de nucleótidos y/o de aminoácidos ☒ Seleccione la casilla si la descripción contiene una lista de secuencias	
Se presenta una copia electrónica Se adjunta la declaración de conformidad de la lista de secuencias en papel o electrónica ☒ ☒	
Si utilizó el Impreso "Suite", indique el número de páginas adjuntas	
11 Firma del solicitante o del agente (nombre y cargo del suscrito) (Firma) 921169	
Visado de la prefectura o del INPI	

~~no~~

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de sus fragmentos es capaz de unirse al receptor IGF-IR del factor del crecimiento humano I parecido a la insulina y, de ser necesario, inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2 y/o capaz de inhibir específicamente la actividad de tirosin quinasa de dicho receptor IGF-IR, caracterizado en que comprende:

- una cadena liviana que comprende al menos una región determinante complementaria CDR seleccionada de CDR's de la secuencia SEQ ID No. 1, 2 o 3, o al menos una CDR cuya secuencia tiene al menos 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 1, 2 o 3;
- una cadena pesada que comprende al menos una CDR seleccionado de CDR's de la secuencia SEQ ID Nos. 4, 5, y 6, o al menos una CDR cuya secuencia tiene al menos 80% de identidad después de alineación óptima con la secuencia SEQ ID Nos. 4, 5, y 6.

2. El anticuerpo de la reivindicación 1, denominado 13F5 y caracterizado porque comprende una cadena pesada de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 20 y en que además comprende una cadena liviana de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 19.

3. Un hibridoma de murina capaz de secretar un anticuerpo como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2.

4. El hibridoma de murina como se reivindica en la reivindicación 3 depositada en el CNCM (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, Institut Pasteur, Paris, Francia) el 25 de marzo de 2004 bajo el número I-3193.

5. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de sus dichos fragmentos es capaz de unirse al receptor IGF-IR del factor del crecimiento humano I parecido a la insulina y, de ser necesario, inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o

121

IGF2 y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin quinasa de dicho receptor IGF-IR, caracterizado porque comprende:

- una cadena liviana que comprende al menos una región determinante complementaria CDR seleccionada de las CDR's de la secuencia SEQ ID No. 7, 8, o 9, o al menos una CDR cuya secuencia tiene al menos 80% de identidad después de una alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 7, 8, o 9;
- una cadena pesada que comprende al menos una CDR seleccionada de CDR's de la secuencia SEQ ID Nos. 10, 11, y 12, y en donde la CDR que tiene la secuencia SEQ ID No. 11 puede ser reemplazada por la CDR que tiene la secuencia SEQ ID No. 26, o al menos una secuencia que tiene al menos un 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 10, 11 o 26, y 12.

6. El anticuerpo de la reivindicación 5, denominado 12D5 y caracterizado porque comprende una cadena pesada de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 22 o 23 y porque además comprende una cadena ligera de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 21.

7. Un hibridoma de murina capaz de secretar un anticuerpo como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6.

8. El hibridoma de murina como se reivindica en la reivindicación 7 depositado en el CNCM, Institut Pasteur, Paris, el 8 de abril de 2004 bajo el número I-3195.

9. Un anticuerpo aislado, o uno de sus fragmentos funcionales, dicho anticuerpo o uno de sus dichos fragmentos es capaz de unirse al receptor IGF-IR del factor del crecimiento humano I semejante a la insulina y, de ser necesario, inhibir la unión natural de sus ligandos IGF1 y/o IGF2 y/o capaz de inhibir específicamente la actividad tirosin quinasa de dicho receptor IGF-IR, caracterizado porque comprende:

- una cadena liviana que comprende al menos una región determinante complementaria CDR seleccionada de las CDR's de la secuencia SEQ ID No. 13, 14, o 15, o al menos una CDR cuya

22

secuencia tiene al menos 80% de identidad después de una alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 13, 14, o 15; y/o

- una cadena pesada que comprende al menos una CDR seleccionada de CDR's de la secuencia SEQ ID Nos. 16, 17, o al menos una secuencia que tiene al menos un 80% de identidad después de la alineación óptima con la secuencia SEQ ID No. 16, 17, y 18.

10. El anticuerpo de la reivindicación 9, denominado 2D10 y caracterizado porque comprende una cadena pesada de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 25 y porque además comprende una cadena ligera de secuencia que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 24.

11. Un hibridoma de murina capaz de secretar un anticuerpo como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10.

12. El hibridoma de murina como se reivindica en la reivindicación 11 depositado en el CNCM, Institut Pasteur, Paris, el 13 de marzo de 2004 bajo el número I-3214.

13. Un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, caracterizado porque dicho anticuerpo es secretado por el hibridoma como se reivindica en la reivindicación 4, 8 o 12.

14. El anticuerpo o uno de sus fragmentos funcionales, como se reivindica en la reivindicación 13, caracterizado porque dicho anticuerpo es un anticuerpo quimérico y además comprende las regiones constantes de la cadena ligera y la cadena pesada derivadas de un anticuerpo de una especie heteróloga al ratón.

15. El anticuerpo quimérico, o uno de sus fragmentos funcionales, como se reivindica en la reivindicación 14, caracterizado porque dicha especie heteróloga es el hombre.

16. Un hibridoma de murina depositado en el CNCM, Institut Pasteur, Paris, el 1 de julio de 2004 bajo el número I-3249.

8 123

17. Una composición que comprende a modo de principio activo un compuesto que consiste de un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionales, como se reivindica en una de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 - 15 o producido por el hibridoma de acuerdo con las reivindicaciones 3 - 4, 7 - 8, 11 - 12 o 16.

18. La composición como se reivindica en la reivindicación 17, caracterizada porque comprende, además, como producto de combinación para uso simultaneo, separado o secuencial, un anticuerpo, un agente citotóxico/citostático y/o un inhibidor de la actividad de la tirosin quinasa respectivamente de los receptores para IGF-I y/o EGF.

19. La composición como se reivindica en una de las reivindicaciones 17 o 18 como medicamento.

20. El uso de un anticuerpo, o de uno de sus fragmentos funcionales, como se reivindica en una de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 - 15 o producido por el hibridoma de acuerdo con las reivindicaciones 3 - 4, 7 - 8, 11 - 12 o 16 y/o de una composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19 para la preparación de un medicamento ideado para prevenir o para tratar una enfermedad conectada con la expresión excesiva y/o una activación anormal del receptor IGF-I, y/o conectada con una hiperactivación de la ruta de transducción de la señal mediada por la interacción del IGF1 o el IGF2 con el IGF-IR.

21. El uso como se reivindica en la reivindicación 20 para la preparación de un medicamento ideado para inhibir la transformación de células normales en células con carácter tumoral, preferiblemente dependiente del IGF, específicamente IGF-1 y/o IGF-2.

22. El uso como se reivindica en la reivindicación 20 para la preparación de un medicamento ideado para inhibir el crecimiento y/o proliferación de células tumorales, preferiblemente dependientes del IGF, específicamente células dependientes de IGF-1 y/o IGF-2.

56 124

23. El uso como se reivindica en una de las reivindicaciones 20 a 22 para la preparación de un medicamento ideado para la prevención o para el tratamiento del cáncer.

24. El uso como se reivindica en la reivindicación 23, caracterizado porque dicho cáncer se selecciona del cáncer de próstata, osteosarcomas, cáncer del pulmón, cáncer del seno, cáncer del endometrio o cáncer del colon.

25. El uso como se reivindica en una de las reivindicaciones 20 a 22 para la preparación de un medicamento ideado para la prevención o para el tratamiento de soriasis.

26. Un método de diagnóstico *in vitro* de una enfermedad inducida por un exceso de expresión o una falta de expresión del receptor IGF-1 que parte de un muestreo biológico en el que se sospecha la presencia anormal del receptor IGF-I, caracterizado porque dicha muestra biológica es puesta en contacto con un anticuerpo como se reivindica en una de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 - 15 o producido por el hibridoma de acuerdo con las reivindicaciones 3 - 4, 7 - 8, 11 - 12 o 16, ya que es posible para dicho anticuerpo estar, si es necesario, marcado.

**DOCUMENT OF ASSIGNMENT OF
PATENT APPLICATION**

ASSIGNMENT

The Undersigned

- 1) Lillane GOETSCH
- 2) Nathalie CORVAIA

acting as Inventors

of PIERRE FABRE MEDICAMENT

with domicile in

- 1) 15, route de Cluses - 74130 AYZE - FRANCE
- 2) Résidence Les Chênes - 2 rue des Chênes - 74180 ARCHAMPS - France

hereby declares that it assigns all rights of ownership as well as all rights and privileges relating thereto without exception over the following patent application in Colombia:

Colombian Patent App'n. No. 05074351

to PIERRE FABRE MEDICAMENT

domiciled in 45, place Abel Gance - 92100 BOULOGNE-BILLANCOURT - FRANCE

The assignor and the assignee sign this document as proof of their acceptance of the assignment.

Given and signed on the 30th day of August of 2005

**DOCUMENTO DE TRASPASO DE
SOLICITUD DE PATENTE**

CESION

El Suscrito

en calidad de Inventores

de

con domicilio

declara por el presente documento que cede todos los derechos de propiedad que le correspondan, así como las prerrogativas, sin excepción alguna, sobre la siguiente solicitud de patente en Colombia:

a

domiciliada en

El cedente y el cesionario firman este documento como prueba de su aceptación de la cesión.

Dado y firmado a los _____ días del mes de _____ de 200_

28/08/05

Firma del Cedente

Signature of Assignor

- 1) Lillane GOETSCH
- 2) Nathalie CORVAIA

Signature of Assignee


Jean-Pierre COUZINIER
Chief Operating Officer

Firma del Cesionario

PIERRE FABRE MEDICAMENT
Société Anonyme
17, avenue Jean Moulin - 81106 CASTRES
45, place Abel Gance - 92100 BOULOGNE

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

126

On this _____ day of _____ of _____
personally appeared before me

Hoy _____ de _____ de _____
personalmente compareció ante mí

Jean-Pierre COUZINIER
to me known, and known to me to be the
person who signed the foregoing instrument
who being by me duly sworn did depose and
say that he (she) is the

a quien conozco, y de quien me consta que firmó
el anterior documento, debidamente juramentado
declaró y dijo que él (ella) es

Chief Operating Officer
of PIERRE FABRE MEDICAMENT

de

Which is legally constituted for a term not yet
expired, that deponent is authorized by said
Company to confer this Assignment document;
that the seal affixed hereunto by the deponent
in the name and on behalf of said Corporation is
the corporate seal thereof; and that the purpose
for which this instrument is granted is included
within the corporate purpose of company.

Sociedad legalmente constituida para un período
de duración que aún no ha terminado; que el
declarante está autorizado por dicha compañía
para conferir este documento de Cesión; que el
sello estampado por él al pie de tal cesión, en
nombre y representación de la expresada
compañía, es el sello oficial de ella; y que el
objeto para el cual se confiere este instrumento
está comprendido dentro del objeto social de la
sociedad.

The undersigned Notary Public attests that he
has seen the documents that prove the
existence of the company.

El suscrito Notario hace constar que tuvo a la
vista las pruebas de la existencia de la sociedad.

State of France
under date of

Estado de _____
con fecha _____

and that he (she) who grants the present
Assignment document is its Representative.

y que quien confiere el presente documento de
cesión es su representante.



Notario Público (sello)

**CERTIFICADO NOTARIAL
PERSONA NATURAL**

On this _____ day of _____ of _____
personally appeared before me
Liliane Gostach

Hoy _____ de _____ de _____
compareció(aron) ante mí

Nathalie Corvaie
who is(are) known to me and who I attest
executed the foregoing document and he (they)
declared he (they) grant(s) the document for the
uses and purposes therein expressed.

a quien (es) conozco y me consta que es(son)
la(s) persona(s) firmante(s) del documento que
precede y quien(es) declara(n) que otorgan el
mismo para los fines y propósitos que en él se
expresan.



Notario Público (sello)

LEGALIZATION BY APOSTILLE IS REQUIRED.

LEGALIZACION POR APOSTILLA ES REQUERIDA.

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1 - République Française

Le présent acte public

2 - a été signé par.....

3 - agissant en qualité de.....

4 - est revêtu du sceau de.....

At ste

5 - à TOULOUSE

6 - le... 13 SEP 2005

7 - Par le procureur général près la cour d'appel

8 - Sous n°.....

9 - Sceau

10 - Signature



127
34

**TRADUCCION AL ESPAÑOL del Documento de Cesión a PIERRE FABRE
MEDICAMENT firmado por los cedentes y el cesionario.**

En el anverso del Certificado Notarial (Sociedad) hay un sello que dice:

**Sr. Philippe DEYVAUX, NOTARIO
81100 Castres**

En el reverso del Certificado Notarial (Sociedad) hay un sello que dice:

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

- 1. República Francesa**

El presente documento público

- 2. ha sido firmado por Sr. DEYVAUX
3. firmando en calidad de Notario
4. lleva el Sello/Timbre del Despacho del Castres**

Certificado

- | | |
|--|---------------------------------------|
| 5. en TOULOUSE | 6. el 13 de septiembre de 2005 |
| 7. por el procurador general de la corte de apelaciones | |
| 8. Bajo el no. 6420 ~ | |
| 9. Sello | 10. Firma |

Brigard & Castro

BOGOTÁ, COLOMBIA

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros) **PIERRE FABRE MEDICAMENT**
domiciliado(s) en **Castres, Francia**
Nuestro poder **Franoise SEGUR**

domiciled in **45, place Abel Gance
92100 BOULOGNE-BILLANCOURT
FRANCE**

Nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO y/o CARLOS H. PALACIO EASTMAN y/o HECTOR GOMEZ MEJIA**, de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recibir de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales y enseñas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

Hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO and/or CARLOS H. PALACIO EASTMAN and/or HECTOR GOMEZ MEJIA**, of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition; criminal proceedings, actions for payment of damages; claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures and in other actions or similar proceedings.

A esta efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistirse a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros) intereses, con todas las demás facultades legales necesarias.

To that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistirse, transigir, comprometer, y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO y/o CARLOS H. PALACIO EASTMAN y/o HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 16-58 Piso 9, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

This power includes the faculty to ratify or confirm in my (our) name, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO and/or CARLOS H. PALACIO EASTMAN and/or HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciled in Carrera 7 No. 16-58, Piso 9, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

Otorgado y firmado en

Granted and signed in **Castres**

hoy de de 200_

this 26th day of July 2005

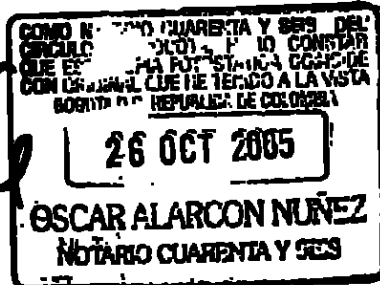
Firma

Signature

Nombre **PIERRE FABRE MEDICAMENT**
Car

Jean-Pierre COUZINIER
Name **Chief Operating Officer**
Title: **NOVEL ANTI-HGF- β R ANTIBODIES AND USES THEREOF**

Société Anonyme
17, avenue Jean Moulin - 81106 CASTRES
45, place Abel Gance - 92100 BOULOGNE



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Hoy de de
personalmente compareció ante mí

a quien conozco, y de quien me consta que firmó el anterior documento, debidamente juramentado declaró y dijo que él (ella) es

de

Sociedad legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado; que el declarante está autorizado por dicha compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y representación de la expresada compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del objeto social de la sociedad.

El suscrito Notario hace constar que tuvo a la vista las pruebas de la existencia de la sociedad.

Estado de
con fecha

y que quien confiere el presente poder es su representante.

Notario Público (sello)

**CERTIFICADO NOTARIAL
PERSONA NATURAL**

Hoy de de , compareció(eron)
ante mí

a quien (as) conozco y me consta que se(son) le(s) persona(s) firmante(s) del documento que precede y quien(es) declare(n) que otorgan el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público (sello)

LEGALIZACION POR APOSTILLA ES REQUERIDA.

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

On this 26th day of July of 2005
personally appeared before me

Jean-Pierre COUZINIER

to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument who being by me duly sworn did depose and say that he (she) is the

Chief Operating Officer

of **PIERRE FABRE MEDICAMENT**

Which is legally constituted for a term not yet expired, that deponent is authorized by said Company to confer this Power of Attorney: that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purpose of company.

The undersigned Notary Public attests that he has seen the documents that prove the existence of the company.

State of France
under date of France

and that he (she) who grants the present power of attorney is its Representative.

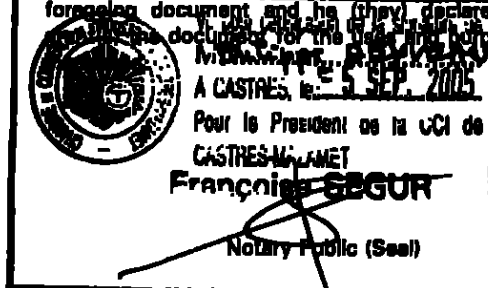


Notary (Seal)

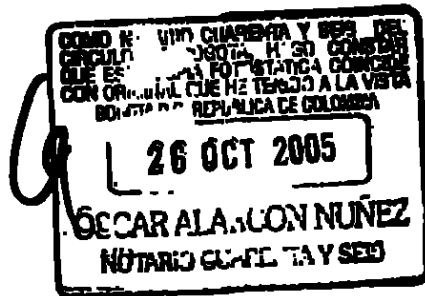
NOTARIAL CERTIFICATE
NATURAL PERSON

On this day of of
personally appeared before me

who is(are) known to me and who I attest executed the foregoing document and he (they) declared he (they) made the document for the uses and purposes therein



LEGALIZATION BY APOSTILLE IS REQUIRED.



APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1 - République Française

Le présent acte public

2 - a été signé par..... **F. SEGURA**

3 - agissant en qualité de..... **Président**

4 - est revêtu du sceau de..... **201**

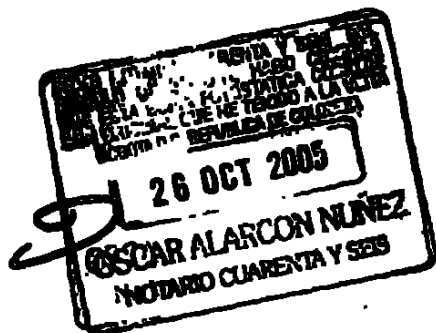
Colette Morand
Arteiste

5 - à TOULOUSE 6 - le..... **9 SEP. 2005**.....

7 - Par le procureur général près la cour d'appel

8 - Sous n°..... **201**

9 - Sceau 10 - Signature

130° 8448
/ 2

**TRADUCCION AL ESPAÑOL del Documento de Poder otorgado por PIERRE
FABRE MEDICAMENT domiciliada en 45, place Abel Gance, 92100
Boulogne-Billancourt, Francia.**

En anverso del Documento de Poder hay un sello que dice:

Visto para la certificación de la firma de:

Sr. Jean-Pierre COUZNIER

En CASTRES el 5 de septiembre de 2005

Por el Presidente de la CCI de

CASTRES-MAZAMET

François SEGUR

[Sello] CAMARA de COMERCIO e INDUSTRIA de CASTRES-MAZAMET

En el anverso del Certificado Notarial (Sociedad) hay un sello que dice:

Sr. Philippe DEYVAUX, NOTARIO

81100 CASTRES

Hay otro sello que dice:

Visto para la certificación de la firma de:

Sr. Philippe DEYVAUX

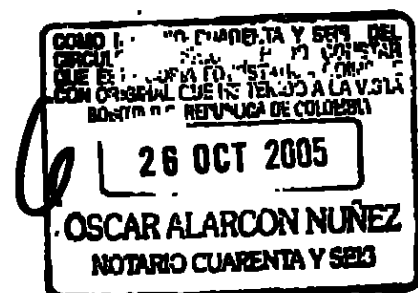
En CASTRES el 5 de septiembre de 2005

Por el Presidente de la CCI de

CASTRES-MAZAMET

François SEGUR

[Sello] CAMARA de COMERCIO e INDUSTRIA de CASTRES-MAZAMET



re dice:

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

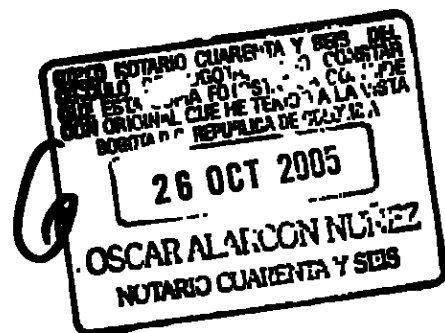
2. **ha sido firmado por F. SEGUR**
3. **firmando en calidad de Presidente**
4. **lleva el Sello/Timbre de CCI Castres-Mazamet**

5. en TOULOUSE 6. el 9 de septiembre de 2005

7. por el procurador general de la corte de apelaciones

8. Bajo el no. 6293

9. Sello 10. Firma



132
6/

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document

2. has been signed by M. Tarver

3. acting in the capacity of Certifying Officer

4. bears the seal/stamp of U.S. Patent and Trademark Office

Certified

5. at Washington, D.C.

6. the twenty-fourth of August, 2005

7. by Assistant Authentication Officer, United States Department of State

8. No. 05029228-5

9. Seal/Stamp:

10. Signature:

Patrick O. Hatchett
Patrick O. Hatchett

133

PA 1353740

THE UNITED STATES OF AMERICA

~~TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:~~

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

August 05, 2005

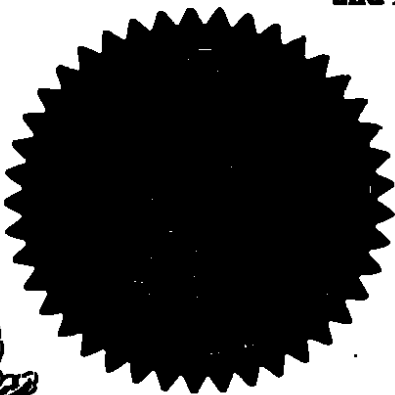
THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.

APPLICATION NUMBER: 60/591,932

FILING DATE: July 29, 2004

By Authority of the

Under Secretary of Commerce for Intellectual Property
and Director of the United States Patent and Trademark Office



M. Tarver

M. TARVER
Certifying Officer

2651 U.S. PTO
07/28/04

Customer Number 2 1 8 3 9

10X 134
Substitute for Form PTO/8B/16

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT under 37 C.F.R. § 1.53(c).

Docket Number		017753-191		Type a plus sign (+) inside this box	+
INVENTOR(s)/APPLICANT(s)					
LAST NAME	FIRST NAME	MIDDLE INITIAL	RESIDENCE (CITY AND EITHER STATE OR FOREIGN COUNTRY)		
GOETSCH	Liliane		Ayze, France		
CORVAIA	Nathalie		Archamps, France		
☐ Additional inventors are being named on the _____ separately numbered sheets attached hereto.					
TITLE OF THE INVENTION (500 characters max)					
NOVEL ANTI-IGF-1R ANTIBODIES AND USES THEREOF					
CORRESPONDENCE ADDRESS					
Burns, Doane, Swecker & Mathis, L.L.P. Customer Number 2 1 8 3 9 P.O. Box 1404 Alexandria, Virginia 22313-1404 UNITED STATES OF AMERICA					
ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)					
☒ Specification Number of Pages 49 ☐ CD(s) Number ☒ Drawing(s) Number of Sheets 3 ☒ Other (specify) Paper copy Sequence Listing (8 pgs) ☐ Application Data Sheet. See 37 CFR 1.76					
METHOD OF PAYMENT OF FILING FEES FOR THIS PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT (check one)					
☐ Applicant claims small entity status. See 37 C.F.R. § 1.27. ☒ A check or money order is enclosed to cover the filing fees. ☒ The Director is hereby authorized to charge any deficiency in filing fees or credit any overpayment to Deposit Account No. 02-4800. This paper is submitted in duplicate. ☐ Payment by credit card. Form PTO-2036 is attached.				FILING FEE AMOUNT ☐ \$80.00 (2005) ☒ \$160.00 (1005)	
The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government. ☒ No. ☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are:					

17658 U.S. PTO
60/591932
07/28/04

SEND TO: Commissioner for Patents, P.O. Box 1480, Alexandria, VA 22313-1480.

SIGNATURE Mary Katherine Burnister, Reg. #26,751 DATE July 29, 2004
TYPED or PRINTED NAME for Norman H. Stepno Registration No. 22,716
(703) 838-8620 (if appropriate)

68-135

NOVEL ANTI-IGF-IR ANTIBODIES AND USES THEREOF

The present invention relates to novel antibodies capable of binding specifically to the human insulin-like growth factor I receptor IGF-IR and/or capable of specifically inhibiting the tyrosine kinase activity of said IGF-IR receptor, especially monoclonal antibodies of murine, chimeric and humanized origin, as well as the amino acid and nucleic acid sequences coding for these antibodies. The invention likewise comprises the use of these antibodies as a medicament for the prophylactic and/or therapeutic treatment of cancers overexpressing IGF-IR or any pathology connected with the overexpression of said receptor as well as in processes or kits for diagnosis of illnesses connected with the overexpression of the IGF-IR. The invention finally comprises products and/or compositions comprising such antibodies in combination with anti-EGFR antibodies and/or anti-VEGF antibodies and/or antibodies directed against other growth factors involved in tumor progression or metastasis and/or compounds and/or anti-cancer agents or agents conjugated with toxins and their use for the prevention and/or the treatment of certain cancers.

The insulin-like growth factor I receptor called IGF-IR is a well described receptor with tyrosine kinase activity having 70% homology with the insulin receptor IR. IGF-IR is a glycoprotein of molecular weight approximately 350,000.

It is a hetero-tetrameric receptor of which each half-linked by disulfide bridges is composed of an extracellular α -subunit and of a transmembrane β -subunit. IGF-IR binds IGF I and IGF II with a very high affinity (K_d $\approx$ 1 nM) but is equally capable of binding to insulin with an affinity 100 to 1000 times less.

164

136

- 2 -

Conversely, the IR binds insulin with a very high affinity although the IGFs only bind to the insulin receptor with a 100 times lower affinity. The tyrosine kinase domain of IGF-IR and of IR has a very high sequence homology although the zones of weaker homology respectively concern the cysteine-rich region situated on the α -subunit and the C-terminal part of the β -subunit. The sequence differences observed in the α -subunit are situated in the binding zone of the ligands and are therefore at the origin of the relative affinities of IGF-IR and of IR for the IGFs and insulin respectively. The differences in the C-terminal part of the β -subunit result in a divergence in the signalling pathways of the two receptors; IGF-IR mediating mitogenic, differentiation and anti-apoptosis effects, while the activation of the IR principally involves effects at the level of the metabolic pathways (Baserga et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1332: F105-126, 1997; Baserga R., *Exp. Cell. Res.*, 253:1-6, 1999).

The cytoplasmic tyrosine kinase proteins are activated by the binding of the ligand to the extracellular domain of the receptor. The activation of the kinases in its turn involves the stimulation of different intra-cellular substrates, including IRS-1, IRS-2, Shc and Grb 10 (Peruzzi F. et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 125:166-173, 1999). The two major substrates of IGF-IR are IRS and Shc which mediate, by the activation of numerous effectors downstream, the majority of the growth and differentiation effects connected with the attachment of the IGFs to this receptor. The availability of substrates can consequently dictate the final biological effect connected with the activation of the IGF-IR. When IRS-1 predominates, the cells tend to proliferate and to

R 137

- 3 -

transform. When Shc dominates, the cells tend to differentiate (Valentinis B. et al., J. Biol. Chem. 274:12423-12430, 1999). It seems that the route principally involved for the effects of protection
5 against apoptosis is the phosphatidyl-inositol 3-kinases (PI 3-kinases) route (Prisco M. et al., Horm. Metab. Res., 31:80-89, 1999; Peruzzi F. et al., J. Cancer Res. Clin. Oncol., 125:166-173, 1999).

The role of the IGF system in carcinogenesis has
10 become the subject of intensive research in the last ten years. This interest followed the discovery of the fact that in addition to its mitogenic and antiapoptosis properties, IGF-IR seems to be required for the establishment and the maintenance of a
15 transformed phenotype. In fact, it has been well established that an overexpression or a constitutive activation of IGF-IR leads, in a great variety of cells, to a growth of the cells independent of the support in media devoid of fetal calf serum, and to the
20 formation of tumors in nude mice. This in itself is not a unique property since a great variety of products of overexpressed genes can transform cells, including a good number of receptors of growth factors. However, the crucial discovery which has clearly demonstrated
25 the major role played by IGF-IR in the transformation has been the demonstration that the R- cells, in which the gene coding for IGF-IR has been inactivated, are totally refractory to transformation by different agents which are usually capable of transforming the
30 cells, such as the E5 protein of bovine papilloma virus, an overexpression of EGFR or of PDGFR, the T antigen of SV 40, activated ras or the combination of these two last factors (Sell C. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 90: 11217-11221, 1993; Sell C. et al.,

138

- 4 -

Mol. Cell. Biol., 14:3604-3612, 1994; Morrione A. J., Virol., 69:5300-5303, 1995; Coppola D. et al., Mol. Cell. Biol., 14:4588-4595, 1994; DeAngelis T et al., J. Cell. Physiol., 164:214-221, 1995).

5 IGF-IR is expressed in a great variety of tumors and of tumor lines and the IGFs amplify the tumor growth via their attachment to IGF-IR. Other arguments in favor of the role of IGF-IR in carcinogenesis come from studies using murine monoclonal antibodies
10 directed against the receptor or using negative dominants of IGF-IR. In effect, murine monoclonal antibodies directed against IGF-IR inhibit the proliferation of numerous cell lines in culture and the growth of tumor cells in vivo (Arteaga C. et al.,
15 Cancer Res., 49:6237-6241, 1989; Li et al., Biochem. Biophys. Res. Com., 196:92-98, 1993; Zia F et al., J. Cell. Biol., 24:269-275, 1996; Scotlandi K et al., Cancer Res., 58:4127-4131, 1998). It has likewise been shown in the works of Jiang et al. (Oncogene, 18:6071-
20 6077, 1999) that a negative dominant of IGF-IR is capable of inhibiting tumor proliferation.

Regarding the increasing interest on IGF-IR and, more particularly, monoclonal antibodies able to bind to, or inhibit the tyrosine kinase activity of, IGF-IR,
25 the applicants have already developed and characterized a humanized monoclonal antibody called 7C10 or h7C10 (coded F50035). An international patent application PCT/FR03/00178 relating to this antibody and its uses have been filed and published on 24 July 2003 under
30 the publication number WO 03/059951. The content of this patent application is incorporated herein by reference.

The object of the present invention is to be able to have available other murine monoclonal antibodies,

XZ 139

- 5 -

preferably chimerized or humanized antibodies, which will recognize IGF-IR specifically and with great affinity. These antibodies will interact little or not at all with the IR receptor. Their attachment will be able to inhibit *in vitro* the growth of tumors expressing IGF-IR by interacting principally with the signal transduction pathways activated during IGF1/IGF-IR and IGF2/IGF-IR interactions. These antibodies will be able to be active *in vivo* on all the types of tumors expressing IGF-IR including estrogen-dependent tumors of the breast and tumors of the prostate.

More particularly, the present invention concerns four different anti-IGF-IR monoclonal antibodies.

In a first aspect, a subject of the present invention is an isolated antibody, or one of its functional fragments, said antibody or one of its said fragments being capable of binding specifically to the human insulin-like growth factor I receptor and, if necessary, preferably moreover capable of inhibiting the natural attachment of the ligands IGF1 and/or IGF2 of IGF-IR and/or capable of specifically inhibiting the tyrosine kinase activity of said IGF-IR receptor, characterized in that it comprises:

- a light chain comprising at least one complementarity determining region CDR chosen from the CDRs of amino acid sequence SEQ ID Nos. 1, 2 and 3, or at least one CDR whose sequence has at least 80%, preferably 85%, 90%, 95% and 98% identity, after optimum alignment, with the sequence SEQ ID Nos. 1, 2 and 3; and/ or
- a heavy chain comprising at least one CDR chosen from the CDRs of amino acid sequence SEQ ID Nos. 4, 5 and 6, or at least one CDR whose sequence has at least 80%, preferably 85%, 90%, 95% and 98% identity, after

73 140

- 6 -

optimum alignment, with the sequence SEQ ID No. 4, 5 and 6.

In the present specification and corresponding examples, this antibody will be referred as 13F5.

5 In the present description, the terms "to bind" and "to attach" have the same meaning and are interchangeable.

10 In the present description, the terms polypeptides, polypeptide sequences, peptides and proteins attached to antibody compounds or to their sequence are interchangeable.

15 It must be understood here that the invention does not relate to the antibodies in natural form, that is to say they are not in their natural environment but that they have been able to be isolated or obtained by purification from natural sources, or else obtained by genetic recombination, or by chemical synthesis, and that they can then contain unnatural amino acids as will be described further on.

20 By CDR regions or CDR(s), it is intended to indicate the hypervariable regions of the heavy and light chains of the immunoglobulins as defined by Kabat et al. (Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, NIH, 1991, and later editions). Three heavy chain CDRs and 3 light chain CDRs exist. The term CDR or CDRs is used here in order to indicate, according to the case, one of these regions or several, or even the whole, of these regions 30 which contain the majority of the amino acid residues responsible for the binding by affinity of the antibody for the antigen or the epitope which it recognizes.

By "percentage of identity" between two nucleic acid or amino acid sequences in the sense of the

74 141

- 7 -

present invention, it is intended to indicate a percentage of nucleotides or of identical amino acid residues between the two sequences to be compared, obtained after the best alignment (optimum alignment),
5 this percentage being purely statistical and the differences between the two sequences being distributed randomly and over their entire length. The comparisons of sequences between two nucleic acid or amino acid sequences are traditionally carried out by comparing
10 these sequences after having aligned them in an optimum manner, said comparison being able to be carried out by segment or by "comparison window". The optimum alignment of the sequences for the comparison can be carried out, in addition to manually, by means of the
15 local homology algorithm of Smith and Waterman (1981) [Ad. App. Math. 2:482], by means of the local homology algorithm of Neddleman and Wunsch (1970) [J. Mol. Biol. 48: 443], by means of the similarity search method of Pearson and Lipman (1988) [Proc. Natl. Acad. Sci. USA
20 85:2444], by means of computer software using these algorithms (GAP, BESTFIT, FASTA and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI, or else by BLAST N or BLAST P comparison software).

25 The percentage of identity between two nucleic acid or amino acid sequences is determined by comparing these two sequences aligned in an optimum manner and in which the nucleic acid or amino acid sequence to be compared can comprise additions or deletions with
30 respect to the reference sequence for an optimum alignment between these two sequences. The percentage of identity is calculated by determining the number of identical positions for which the nucleotide or the amino acid residue is identical between the two

142
B

sequences, by dividing this number of identical positions by the total number of positions in the comparison window and by multiplying the result obtained by 100 in order to obtain the percentage of identity between these two sequences.

For example, it is possible to use the BLAST program, "BLAST 2 sequences" (Tatusova et al., "Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences", FEMS Microbiol Lett. 174:247-250) available on the site <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>, the parameters used being those given by default (in particular for the parameters "open gap penalty" : 5, and "extension gap penalty" : 2; the matrix chosen being, for example, the matrix "BLOSUM 62" proposed by the program), the percentage of identity between the two sequences to be compared being calculated directly by the program.

By amino acid sequence having at least 80%, preferably 85%, 90%, 95% and 98% identity with a reference amino acid sequence, those having, with respect to the reference sequence, certain modifications, in particular a deletion, addition or substitution of at least one amino acid, a truncation or an elongation are preferred. In the case of a substitution of one or more consecutive or nonconsecutive amino acid(s), the substitutions are preferred in which the substituted amino acids are replaced by "equivalent" amino acids. The expression "equivalent amino acids" is aimed here at indicating any amino acid capable of being substituted with one of the amino acids of the base structure without, however, essentially modifying the biological activities of the corresponding antibodies and such as will be defined later, especially in the examples. These equivalent

26 143

- 9 -

amino acids can be determined either by relying on their structural homology with the amino acids which they replace, or on results of comparative trials of biological activity between the different antibodies
5 capable of being carried out.

By way of example, mention is made of the possibilities of substitution capable of being carried out without resulting in a profound modification of the biological activity of the corresponding modified
10 antibody. It is thus possible to replace leucine by valine or isoleucine, aspartic acid by glutamic acid, glutamine by asparagine, arginine by lysine, etc., the reverse substitutions being naturally envisageable under the same conditions.

15 In a second aspect, a subject of the present invention is an isolated antibody, or one of its functional fragments, said antibody or one of its said fragments being capable of binding specifically to the human insulin-like growth factor I receptor and, if
20 necessary, preferably moreover capable of inhibiting the natural attachment of the ligands IGF1 and/or IGF2 of IGF-IR and/or capable of specifically inhibiting the tyrosine kinase activity of said IGF-IR receptor, characterized in that it comprises:

- 25 - a light chain comprising at least one complementarity determining region CDR chosen from the CDRs of amino acid sequence SEQ ID Nos. 7, 8 and 9, or at least one CDR whose sequence has at least 80%, preferably 85%, 90%, 95% and 98% identity, after optimum alignment,
30 with the sequence SEQ ID Nos. 7, 8 and 9; and/or
- a heavy chain comprising at least one CDR chosen from the CDRs of amino acid sequence SEQ ID Nos. 10, 11, or 26, and 12, or at least one CDR whose sequence has at least 80%, preferably 85%, 90%, 95% and 98% identity,

after optimum alignment, with the sequence SEQ ID No. 10, 11 or 26, and 12.

In the following specification, this antibody will be referred as 12D5.

- 5 In a third aspect, a subject of the present invention is an isolated antibody, or one of its functional fragments, said antibody or one of its said fragments being capable of binding specifically to the human insulin-like growth factor I receptor and, if
- 10 necessary, preferably moreover capable of inhibiting the natural attachment of the ligands IGF1 and/or IGF2 of IGF-IR and/or capable of specifically inhibiting the tyrosine kinase activity of said IGF-IR receptor, characterized in that it comprises:
- 15 - a light chain comprising at least one complementarity determining region CDR chosen from the CDRs of amino acid sequence SEQ ID Nos. 13, 14 and 15, or at least one CDR whose sequence has at least 80%, preferably 85%, 90%, 95% and 98% identity, after optimum
- 20 alignment, with the sequence SEQ ID Nos. 13, 14 and 15; and/or
- a heavy chain comprising at least one CDR chosen from the CDRs of amino acid sequence SEQ ID Nos. 16, 17 and 18, or at least one CDR whose sequence has at least
- 25 80%, preferably 85%, 90%, 95% and 98% identity, after optimum alignment, with the sequence SEQ ID No. 16, 17 and 18.

In the following specification, this antibody will be referred as 2D10.

- 30 Last, in yet another aspect, a subject of the present invention is an isolated antibody, or one of its functional fragments, capable of binding specifically to the human insulin-like growth factor I receptor and, if necessary, preferably moreover capable

of inhibiting the natural attachment of the ligands IGF1 and/or IGF2 of IGF-IR and/or capable of specifically inhibiting the tyrosine kinase activity of said IGF-IR receptor, characterized in that it consists
5 in the antibody called 21E3 and registered at the CNCM (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, Institut Pasteur, Paris, France) thereafter mentioned according to the Budapest Treaty.

The antibodies according to the present invention,
10 i.e. 13F5, 12D5, 2D10 and 21E3 are preferably specific monoclonal antibodies, especially of murine, chimeric or humanized origin, which can be obtained according to the standard methods well known to the person skilled in the art.

15 In general, for the preparation of monoclonal antibodies or their functional fragments, especially of murine origin, it is possible to refer to techniques which are described in particular in the manual "Antibodies" (Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory
20 Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor NY, pp. 726, 1988) or to the technique of preparation from hybridomas described by Kohler and Milstein (Nature, 256:495-497, 1975).

The monoclonal antibodies according to the
25 invention can be obtained, for example, from an animal cell immunized against the IGF-IR receptor, or one of its fragments containing the epitope specifically recognized by said monoclonal antibodies according to the invention. Said IGF-IR receptor, or one of its said
30 fragments, can especially be produced according to the usual working methods, by genetic recombination starting with a nucleic acid sequence contained in the cDNA sequence coding for the IGF-IR receptor or by peptide synthesis starting from a sequence of amino

146
X

- 12 -

acids comprised in the peptide sequence of the IGF-IR receptor.

The monoclonal antibodies according to the invention can, for example, be purified on an affinity
5 column on which the IGF-IR receptor or one of its fragments containing the epitope specifically recognized by said monoclonal antibodies according to the invention has previously been immobilized. More particularly, said monoclonal antibodies can be
10 purified by chromatography on protein A and/or G, followed or not followed by ion-exchange chromatography aimed at eliminating the residual protein contaminants as well as the DNA and the LPS, in itself followed or not followed by exclusion chromatography on Sepharose
15 gel in order to eliminate the potential aggregates due to the presence of dimers or of other multimers. In an even more preferred manner, the whole of these techniques can be used simultaneously or successively.

Chimeric or humanized antibodies are likewise
20 included in antibodies according to the present invention.

By chimeric antibody; it is intended to indicate an antibody which contains a natural variable (light chain and heavy chain) region derived from an antibody
25 of a given species in combination with the light chain and heavy chain constant regions of an antibody of a species heterologous to said given species.

The antibodies or their fragments of chimeric type according to the invention can be prepared by using the
30 techniques of genetic recombination. For example, the chimeric antibody can be produced by cloning a recombinant DNA containing a promoter and a sequence coding for the variable region of a non-human, especially murine, monoclonal antibody according to the

80 143

- 13 -

invention and a sequence coding for the constant region of human antibody. A chimeric antibody of the invention encoded by such a recombinant gene will be, for example, a mouse-man chimera, the specificity of this
5 antibody being determined by the variable region derived from the murine DNA and its isotype determined by the constant region derived from the human DNA. For the methods of preparation of chimeric antibodies, it is possible, for example, to refer to the document
10 Verhoeyn et al. (BioEssays, 8:74, 1988).

By humanized antibody, it is intended to indicate an antibody which contains CDR regions derived from an antibody of nonhuman origin, the other parts of the antibody molecule being derived from one (or from
15 several) human antibodies. Moreover, some of the residues of the segments of the skeleton (called FR) can be modified in order to conserve the affinity of the binding (Jones et al., Nature, 321:522-525, 1986; Verhoeyn et al., Science, 239:1534-1536, 1988;
20 Riechmann et al., Nature, 332:323-327, 1988).

The humanized antibodies according to the invention or their fragments can be prepared by techniques known to the person skilled in the art (such as, for example, those described in the documents
25 Singer et al., J. Immun. 150:2844-2857, 1992; Mountain et al., Biotechnol. Genet. Eng. Rev., 10: 1-142, 1992; or Bebbington et al., Bio/Technology, 10:169-175, 1992). Such humanized antibodies according to the invention are preferred for their use in in
30 vitro diagnostic methods, or in vivo prophylactic and/or therapeutic treatment.

By functional fragment of an antibody according to the invention, it is intended to indicate in particular an antibody fragment, such as Fv, scFv (sc for single

148
Xf

- 14 -

chain), Fab, F(ab')₂, Fab', scFv-Fc fragments or diabodies, or any fragment of which the half-life time would have been increased by chemical modification, such as the addition of poly(alkylene) glycol such as
5 poly(ethylene) glycol ("PEGylation") (pegylated fragments called Fv-PEG, scFv-PEG, Fab-PEG, F(ab')₂-PEG or Fab'-PEG) ("PEG" for Poly(Ethylene) Glycol), or by incorporation in a liposome, said fragments having at least one of the characteristic CDRs of sequence SEQ ID
10 No. 1 to 6, 7 to 12 or 26, or 13 to 18, according to the invention, and, especially, in that it is capable of exerting in a general manner an even partial activity of the antibody from which it is descended, such as in particular the capacity to recognize and to
15 bind to the IGF-IR receptor, and, if necessary, to inhibit the activity of the IGF-IR receptor.

Preferably, said functional fragments will be constituted or will comprise a partial sequence of the heavy or light variable chain of the antibody from
20 which they are derived, said partial sequence being sufficient to retain the same specificity of binding as the antibody from which it is descended and a sufficient affinity, preferably at least equal to 1/100, in a more preferred manner to at least 1/10, of
25 that of the antibody from which it is descended, with respect to the IGF-IR receptor. Such a functional fragment will contain at the minimum 5 amino acids, preferably 10, 15, 25, 50 and 100 consecutive amino acids of the sequence of the antibody from which it is
30 descended.

Preferably, these functional fragments will be fragments of Fv, scFv, Fab, F(ab')₂, F(ab'), scFv-Fc type or diabodies, which generally have the same specificity of binding as the antibody from which they

82-149

- 15 -

are descended. According to the present invention, antibody fragments of the invention can be obtained starting from antibodies such as described above by methods such as digestion by enzymes, such as pepsin or
5 papain and/or by cleavage of the disulfide bridges by chemical reduction. In another manner, the antibody fragments comprised in the present invention can be obtained by techniques of genetic recombination likewise well known to the person skilled in the art or
10 else by peptide synthesis by means of, for example, automatic peptide synthesizers such as those supplied by the company Applied Biosystems, etc.

More particularly, the invention comprises the antibodies, or their functional fragments, according to
15 the present invention, especially chimeric or humanized antibodies, obtained by genetic recombination or by chemical synthesis.

According a first or a second approach, the antibody will be define by its heavy chain sequence
20 and/or by its light chain sequence.

In a first preferred manner, the present invention relates to an antibody or one of its functional fragments, according to the invention, characterized in that it comprises:

- 25 - a heavy chain comprising at least two of the three CDRs or the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 4 to 6, or at least two of three CDRs or three CDRs of sequence respectively having at least 80% identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 4 to 6; and/or
- 30 - a light chain comprising at least two of the three CDRs or the three CDRs of sequence SEQ ID No. 1 to 3, or a CDR whose sequence has at least 80% identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 1 to 3.

In a second preferred manner, the present invention relates to an antibody or one of its functional fragments, according to the invention, characterized in that it comprises:

- 5 - a heavy chain comprising at least two of the three CDRs or the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 10 to 12 and wherein the CDR having the sequence SEQ ID No.11 can be replaced by the CDR having the sequence SEQ ID No.26, or at least two of three CDRs or three CDRs of
10 sequence respectively having at least 80% identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 10, 11 (or 26) and 12; and/or
- a light chain comprising at least two of the three CDRs or the three CDRs of sequence SEQ ID No. 7 to 9,
15 or a CDR whose sequence has at least 80% identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 7 to 9.

In a third preferred manner, the present invention relates to an antibody or one of its functional fragments, according to the invention, characterized in
20 that it comprises:

- a heavy chain comprising at least two of the three CDRs or the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 16 to 18, or at least two of three CDRs or three CDRs of
25 sequence respectively having at least 80% identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID Nos 16 to 18; and/or
- a light chain comprising at least two of the three CDRs or the three CDRs of sequence SEQ ID No. 13 to 15,
30 or a CDR whose sequence has at least 80% identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 13 to 15.

According a third preferred approach, the antibody will be now define both by its light chain sequence and its heavy chain sequence.

15
87

- 17 -

In a first preferred manner, the antibody or one of its functional fragments according to the invention is characterized in that it comprises:

- a heavy chain comprising the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 4 to 6, or three CDRs of sequence having at least 80% of identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 4 to 6; and moreover
- a light chain comprising the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 1 to 3, or three CDRs of sequence having at least 80% of identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 1 to 3.

In a second preferred manner, the antibody or one of its functional fragments according to the invention is characterized in that it comprises:

- a heavy chain comprising the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 10 to 12, and wherein the CDR having the sequence SEQ ID No. 12 can be replaced by the CDR having the sequence SEQ ID No. 26, or three CDRs of sequence having at least 80% of identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 10, 11 (or 26) and 12; and moreover
- a light chain comprising the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 7 to 9, or three CDRs of sequence having at least 80% of identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 7 to 9.

In a third preferred manner, the antibody or one of its functional fragments according to the invention is characterized in that it comprises a heavy chain comprising the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 16 to 18, or three CDRs of sequence having at least 80% of identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 16 to 18; and moreover

- a light chain comprising the three CDRs of sequence SEQ ID Nos. 13 to 15, or three CDRs of sequence having

152
✓

- 18 -

at least 80% of identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 13 to 15.

In yet another preferred embodiment, the antibody or one of its functional fragments according to the invention and called 13F5 is characterized in that it comprises a heavy chain of sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N° 20, and in that it moreover comprises a light chain of sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N° 19.

10 In yet another preferred embodiment, the antibody or one of its functional fragments according to the invention and called 12D5 is characterized in that it comprises a heavy chain of sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N° 22 or 23, and in that it
15 moreover comprises a light chain of sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N° 21.

In yet another preferred embodiment, the antibody or one of its functional fragments according to the invention and called 2D10 is characterized in that it
20 comprises a heavy chain of sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N° 25, and in that it moreover comprises a light chain of sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N° 24.

Another possibility, part of the present
25 invention, is an antibody wherein the three CDRs of the heavy chain are randomly chosen in the group comprising the CDRs of each 13F5, 12D5 and 2D10 and wherein the three CDRs of the light chain are also randomly chosen in the group comprising the CDRs of each 13F5, 12D5 and
30 2D10.

According to another aspect, a subject of the present invention is an antibody or one of its functional fragments, according to the invention, characterized in that it does not attach or it does not

attach in a significant manner to the human insulin receptor IR.

In a preferred manner, said functional fragments according to the present invention will be chosen from
5 the fragments Fv, scFv, Fab, (Fab')₂, Fab', scFv-Fc or diabodies, or any functional fragment whose half-life would have been increased by a chemical modification, especially by PEGylation, or by incorporation in a liposome.

10 According to another aspect, the invention relates to murine hybridoma capable of secreting monoclonal antibodies according to the present invention, especially hybridoma of murine origin such as deposited
15 at the Centre National de Culture De Microorganisme (CNCM, National Center of Microorganism Culture) (Institut Pasteur, Paris, France).

The monoclonal antibody here called 13F5, or one of its functional fragments, characterized in that said antibody is secreted by the hybridoma deposited at the
20 CNCM on 25/03/2004 under the number CNCM I-3193 is, of course, part of the present invention. This hybridoma consists in a murine hybridoma resulting in the cellular fusion of immunized mouse splenocytes with a myeloma cell line (Sp20 Ag14).

25 The monoclonal antibody here called 12D5, or one of its functional fragments, characterized in that said antibody is secreted by the hybridoma deposited at the CNCM on 08/04/2004 under the number CNCM I-3195 is, of course, part of the present invention. This hybridoma
30 consists in a murine hybridoma resulting in the cellular fusion of immunized mouse splenocytes with a myeloma cell line (Sp20 Ag14).

The monoclonal antibody here called 2D10, or one of its functional fragments, characterized in that said

154
8/1

- 20 -

antibody is secreted by the hybridoma deposited at the CNCM on 13 mars 2004 under the number I-3214 is, of course, part of the present invention. This hybridoma also consists in a murine hybridoma resulting in the
5 cellular fusion of immunized mouse splenocytes with a myeloma cell line (Sp20 Ag14).

The monoclonal antibody here called 21E3, or one of its functional fragments, characterized in that said antibody is secreted by the hybridoma deposited at the
10 CNCM on 1st July 2004 under the number I-3249 is, of course, part of the present invention. This hybridoma also consists in a murine hybridoma resulting in the cellular fusion of immunized mouse splenocytes with a myeloma cell line (Sp20 Ag14).

15 According to a likewise particular aspect, the present invention relates to a chimeric antibody, or one of its functional fragments, according to the invention, characterized in that said antibody moreover comprises the light chain and heavy chain constant
20 regions derived from an antibody of a species heterologous to the mouse, especially man, and in a preferred manner in that the light chain and heavy chain constant regions derived from a human antibody are respectively the kappa and gamma-1, gamma-2 or
25 gamma-4 region.

According to a novel aspect, the present invention relates to an isolated nucleic acid, characterized in that it is chosen from the following nucleic acids:

a) a nucleic acid, DNA or RNA, coding for an
30 antibody, or one of its functional fragments, according to the invention;

b) a complementary nucleic acid of a nucleic acid such as defined in a).

By nucleic acid, nucleic or nucleic acid sequence, polynucleotide, oligonucleotide, polynucleotide sequence, nucleotide sequence, terms which will be employed indifferently in the present invention, it is
5 intended to indicate a precise linkage of nucleotides, which are modified or unmodified, allowing a fragment or a region of a nucleic acid to be defined, containing or not containing unnatural nucleotides, and being able to correspond just as well to a double-stranded DNA, a
10 single-stranded DNA as to the transcription products of said DNAs.

It must also be understood here that the present invention does not concern the nucleotide sequences in their natural chromosomal environment, that is to say
15 in the natural state. It concerns sequences which have been isolated and/or purified, that is to say that they have been selected directly or indirectly, for example by copy, their environment having been at least partially modified. It is thus likewise intended to
20 indicate here the isolated nucleic acids obtained by genetic recombination by means, for example, of host cells or obtained by chemical synthesis.

A hybridization under conditions of high stringency signifies that the temperature conditions
25 and ionic strength conditions are chosen in such a way that they allow the maintenance of the hybridization between two fragments of complementary DNA. By way of illustration, conditions of high stringency of the hybridization step for the purposes of defining the
30 polynucleotide fragments described above are advantageously the following.

The DNA-DNA or DNA-RNA hybridization is carried out in two steps: (1) prehybridization at 42°C for 3 hours in phosphate buffer (20 mM, pH 7.5) containing 5

150
24

- 22 -

x SSC (1 x SSC corresponds to a 0.15 M NaCl + 0.015 M sodium citrate solution), 50% of formamide, 7% of sodium dodecyl sulfate (SDS), 10 x Denhardt's, 5% of dextran sulfate and 1% of salmon sperm DNA; (2) actual
5 hybridization for 20 hours at a temperature dependent on the size of the probe (i.e. : 42°C, for a probe size > 100 nucleotides) followed by 2 washes of 20 minutes at 20°C in 2 x SSC + 2% of SDS, 1 wash of 20 minutes at 20°C in 0.1 x SSC + 0.1% of SDS. The last wash is
10 carried out in 0.1 x SSC + 0.1% of SDS for 30 minutes at 60°C for a probe size > 100 nucleotides. The hybridization conditions of high stringency described above for a polynucleotide of defined size can be adapted by the person skilled in the art for
15 oligonucleotides of greater or smaller size, according to the teaching of Sambrook et al., (1989, Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd Ed. Cold Spring Harbor).

The invention likewise relates to a vector
20 comprising a nucleic acid according to the present invention.

The invention aims especially at cloning and/or expression vectors which contain a nucleotide sequence according to the invention.

25 The vectors according to the invention preferably contain elements which allow the expression and/or the secretion of the nucleotide sequences in a determined host cell. The vector must therefore contain a promoter, signals of initiation and termination of
30 translation, as well as appropriate regions of regulation of transcription. It must be able to be maintained in a stable manner in the host cell and can optionally have particular signals which specify the secretion of the translated protein. These different

157
40

- 23 -

elements are chosen and optimized by the person skilled in the art as a function of the host cell used. To this effect, the nucleotide sequences according to the invention can be inserted into autonomous replication
5 vectors in the chosen host, or be integrative vectors of the chosen host.

Such vectors are prepared by methods currently used by the person skilled in the art, and the resulting clones can be introduced into an appropriate
10 host by standard methods, such as lipofection, electroporation, thermal shock, or chemical methods.

The vectors according to the invention are, for example, vectors of plasmidic or viral origin. They are useful for transforming host cells in order to clone or
15 to express the nucleotide sequences according to the invention.

The invention likewise comprises the host cells transformed by or comprising a vector according to the invention.

20 The host cell can be chosen from prokaryotic or eukaryotic systems, for example bacterial cells but likewise yeast cells or animal cells, in particular mammalian cells. It is likewise possible to use insect cells or plant cells.

25 The invention likewise concerns animals, except man, which comprise at least one cell transformed according to the invention.

According to another aspect, a subject of the invention is a process for production of an antibody,
30 or one of its functional fragments according to the invention, characterized in that it comprises the following stages:

158
41

- 24 -

a) culture in a medium and appropriate culture conditions of a host cell according to the invention; and

b) the recovery of said antibodies, or one of their functional fragments, thus produced starting from the culture medium or said cultured cells.

The cells transformed according to the invention can be used in processes for preparation of recombinant polypeptides according to the invention. The processes for preparation of a polypeptide according to the invention in recombinant form, characterized in that they employ a vector and/or a cell transformed by a vector according to the invention, are themselves comprised in the present invention. Preferably, a cell transformed by a vector according to the invention is cultured under conditions which allow the expression of said polypeptide and said recombinant peptide is recovered.

As has been said, the host cell can be chosen from prokaryotic or eukaryotic systems. In particular, it is possible to identify nucleotide sequences according to the invention, facilitating secretion in such a prokaryotic or eukaryotic system. A vector according to the invention carrying such a sequence can therefore advantageously be used for the production of recombinant proteins, intended to be secreted. In effect, the purification of these recombinant proteins of interest will be facilitated by the fact that they are present in the supernatant of the cell culture rather than in the interior of the host cells.

It is likewise possible to prepare the polypeptides according to the invention by chemical synthesis. Such a preparation process is likewise a subject of the invention. The person skilled in the art

159
✓

- 25 -

knows the processes of chemical synthesis, for example the techniques employing solid phases (see especially Steward et al., 1984, Solid phase peptide synthesis, Pierce Chem. Company, Rockford, Ill, 2nd ed., (1984))
5 or techniques using partial solid phases, by condensation of fragments or by a classical synthesis in solution. The polypeptides obtained by chemical synthesis and being able to contain corresponding unnatural amino acids are likewise comprised in the
10 invention.

The antibodies, or one of their functional fragments, capable of being obtained by a process according to the invention are likewise comprised in the present invention.

15 According to a second embodiment, the present invention concerns an antibody according to the invention such as described further above, characterized in that it is, moreover, capable of binding specifically to the human epidermal growth
20 factor receptor EGFR and/or capable of specifically inhibiting the tyrosine kinase activity of said EGFR receptor.

The invention likewise concerns a pharmaceutical composition¹ comprising by way of active principle a
25 compound consisting of an antibody, or one of its functional fragments according to the invention, preferably mixed with an excipient and/or a pharmaceutically acceptable vehicle.

Another complementary embodiment of the invention
30 consists in a composition such as described above which comprises, moreover, as a combination product for simultaneous, separate or sequential use, a cytotoxic/cytostatic agent and/or an inhibitor of the

160
43

- 26 -

tyrosine kinase activity respectively of the receptors for IGF-I and/or for EGF.

"Simultaneous use" is understood as meaning the administration of the two compounds of the composition according to the invention in a single and identical pharmaceutical form.

"Separate use" is understood as meaning the administration, at the same time, of the two compounds of the composition according to the invention in distinct pharmaceutical forms.

"Sequential use" is understood as meaning the successive administration of the two compounds of the composition according to the invention, each in a distinct pharmaceutical form.

In a general fashion, the composition according to the invention considerably increases the efficacy of the treatment of cancer. In other words, the therapeutic effect of the anti-IGF-IR antibodies according to the invention is potentiated in an unexpected manner by the administration of a cytotoxic agent. Another major subsequent advantage produced by a composition according to the invention concerns the possibility of using lower efficacious doses of active principle, which allows the risks of appearance of secondary effects to be avoided or to be reduced, in particular the effects of the cytotoxic agent.

In addition, this composition according to the invention would allow the expected therapeutic effect to be attained more rapidly.

In a particularly preferred embodiment, said composition as a combination product according to the invention is characterized in that said cytotoxic/cytostatic agent is chosen from the agents interacting with DNA, the antimetabolites, the topoisomerase I or

161
g/f

- 27 -

II inhibitors, or else the spindle inhibitor or stabilizer agents or else any agent capable of being used in chemotherapy. Such cytotoxic/cytostatic agents, for each of the aforesaid classes of cytotoxic agents, are, for example, cited in the 2001 edition of VIDAL, on the page devoted to the compounds attached to the cancerology and hematology column "Cytotoxics", these cytotoxic compounds cited with reference to this document are cited here as preferred cytotoxic agents.

10 In a particularly preferred embodiment, said composition as a combination product according to the invention is characterized in that said cytotoxic agent is coupled chemically to said antibody for simultaneous use.

15 In a particularly preferred embodiment, said composition according to the invention is characterized in that said cytotoxic/cytostatic agent is chosen from the spindle inhibitor or stabilizer agents, preferably vinorelbine and/or vinflunine and/or vincristine.

20 In order to facilitate the coupling between said cytotoxic agent and said antibody according to the invention, it is especially possible to introduce spacer molecules between the two compounds to be coupled, such as poly(alkylene) glycols like
25 polyethylene glycol, or else amino acids, or, in another embodiment, to use active derivatives of said cytotoxic agents into which would have been introduced functions capable of reacting with said antibody according to the invention. These coupling techniques
30 are well known to the person skilled in the art and will not be expanded upon in the present description.

In another preferred embodiment, said inhibitor of the tyrosine kinase activity of the receptors for IGF-I is selected from the group consisting of derived

162 /
CH

- 28 -

natural agents, dianilinophthalimides, pyrazolo- or pyrrolopyridopyrimidines or else quinazilines. Such inhibitory agents are well known to the person skilled in the art and described in the literature (Ciardiello F., Drugs 2000, Suppl. 1, 25-32).

According to yet another embodiment of the invention, the composition such as described above can likewise comprise another antibody compound directed against the extracellular domain of the HER2/neu receptor, as a combination product for simultaneous, separate or sequential use, intended for the prevention and for the treatment of cancer, especially the cancers overexpressing said HER2/neu receptor and the receptor IGF-IR, such as especially cancer of the breast.

Reference can be made especially to the publications of Albanell et al. (J. of the National Cancer Institute, 93(24):1830-1831, 2001) and of Lu et al. (J. of the National Cancer Institute, 93(24):1852-1857, 2001) justifying the unexpected interest in combining an anti-HER2/neu antibody with an anti-IGF-IR antibody according to the present invention.

In a particular manner, said anti-HER2/neu antibody of the composition according to the invention is the antibody called Trastuzumab (also called Herceptin).

The invention relates, in another aspect, to a composition characterized in that one, at least, of said antibodies, or one of their functional fragments, is conjugated with a cell toxin and/or a radioelement.

Preferably, said toxin or said radioelement is capable of inhibiting at least one cell activity of cells expressing the IGF-IR, in a more preferred manner capable of preventing the growth or the proliferation

163
dB

- 29 -

of said cell, especially of totally inactivating said cell.

Preferably also, said toxin is an enterobacterial toxin, especially *Pseudomonas* exotoxin A.

5 The radioelements (or radioisotopes) preferably conjugated to the antibodies employed for the therapy are radioisotopes which emit gamma rays and preferably iodine¹³¹, yttrium⁹⁰, gold¹⁹⁹, palladium¹⁰⁰, copper⁶⁷, bismuth²¹³ and antimony²¹¹. The radioisotopes which emit
10 beta and alpha rays can likewise be used for the therapy.

By toxin or radioelement conjugated to at least one antibody, or one of its functional fragments, according to the invention, it is intended to indicate
15 any means allowing said toxin or said radioelement to bind to said at least one antibody, especially by covalent coupling between the two compounds, with or without introduction of a linking molecule.

Among the agents allowing binding in a chemical
20 (covalent), electrostatic or noncovalent manner of all or part of the components of the conjugate, mention may particularly be made of benzoquinone, carbodiimide and more particularly EDC (1-ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)-carbodiimide hydrochloride), dimaleimide,
25 dithiobis-nitrobenzoic acid (DTNB), N-succinimidyl S-acetyl thio-acetate (SATA), the bridging agents having one or more phenylazide groups reacting with the ultraviolets (U.V.) and preferably N-[-4-(azidosalicylamino)butyl]-3'-(2'-pyridyldithio)
30 propionamide (APDP), N-succinimid-yl 3-(2-pyridyldithio)propionate (SPDP), 6-hydrazino-nicotinamide (HYNIC).

164
A

- 30 -

Another form of coupling, especially for the radioelements, can consist in the use of a bifunctional ion chelator.

Among these chelates, it is possible to mention
5 the chelates derived from EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) or from DTPA (diethylenetriaminepentaacetic acid) which have been developed for binding metals, especially radioactive
10 derivatives can be substituted by different groups on the carbon chain in order to increase the stability and the rigidity of the ligand-metal complex (Krejcarek et al. (1977); Brechbiel et al. (1991); Gansow (1991); US patent 4 831 175).

15 For example diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) and its derivatives, which have been widely used in medicine and in biology for a long time either in their free form, or in the form of a complex with a metallic ion, have the remarkable characteristic of
20 forming stable chelates with metallic ions and of being coupled with proteins of therapeutic or diagnostic interest such as antibodies for the development of radioimmunoconjugates in cancer therapy (Meases et al., (1984); Gansow et al. (1990)).

25 Likewise preferably, said at least one antibody forming said conjugate according to the invention is chosen from its functional fragments, especially the fragments amputated of their Fc component such as the scFv fragments.

30 The present invention moreover comprises the use of the composition according to the invention for the preparation of a medicament.

More particularly, according to another embodiment, the invention concerns the use of an

165
C/O

- 31 -

antibody, or one of its functional fragments, and/or of
a composition for the preparation of a medicament
intended for the prevention or for the treatment of an
illness induced by an overexpression and/or an abnormal
5 activation of the IGF-I receptor, and/or connected with
a hyperactivation of the transduction pathway of the
signal mediated by the interaction of the IGF1 or IGF2
with IGF-IR.

10 Preferably, said use according to the invention is
characterized in that the administration of said
medicament does not induce or induces only slightly
secondary effects connected with inhibition of the
insulin receptor IR, that is to say inhibition of the
interaction of the IR receptor with its natural ligands
15 due to the presence of said medicament, especially by a
competitive inhibition connected with the attachment of
said medicament to the IR.

The present invention moreover comprises the use
of an antibody, or one of its functional fragments,
20 preferably humanized, and/or of a composition according
to the invention for the preparation of a medicament
intended to inhibit the transformation of normal cells
into cells with tumoral character, preferably IGF-
dependent, especially IGF1- and/or IGF2-dependent.

25 The present invention likewise relates to the use
of an antibody, or one of its functional fragments,
preferably humanized, and/or of a composition according
to the invention for the preparation of a medicament
intended to inhibit the growth and/or the proliferation
30 of tumor cells, preferably IGF-dependent, especially
IGF1- and/or IGF2-dependent.

In a general manner, a subject of the present
invention is the use of an antibody, or one of its
functional fragments, preferably humanized, and/or of a

166
9/2/05

- 32 -

composition according to the invention, for the preparation of a medicament intended for the prevention or for the treatment of cancer preferably expressing IGF-IR and/or of cancer preferably having a hyperactivation of the transduction pathway of the signal mediated by the interaction of IGF1 or IGF2 with IGF-IR, such as, for example, the overexpression of IRS1.

The subject of the present invention is likewise the use of an antibody, or one of its functional fragments, preferably humanized, and/or of a composition according to the invention, for the preparation of a medicament intended for the prevention or for the treatment of psoriasis, psoriasis whose epidermal hyperproliferation can be connected with the expression or the overexpression of IGF-IR, and/or with the hyperactivation of the transduction pathway of the signal mediated by the interaction of IGF-IR with its natural ligands (Wraight C.J. et al. Nat. Biotechnol., 2000, 18(5):521-526. Reversal of epidermal hyperproliferation in psoriasis by insulin-like growth factor I receptor antisense oligonucleotides).

Among the cancers which can be prevented and/or treated, prostate cancer, osteosarcomas, lung cancer, breast cancer, endometrial cancer or colon cancer or any other cancer overexpressing IGF-IR is preferred.

According to yet another aspect, a subject of the present invention is a method of diagnosis, preferably in vitro, of illnesses connected with an overexpression or an underexpression, preferably an overexpression, of the IGF-I receptor starting from a biological sample in which the abnormal presence of IGF-I receptor is suspected, characterized in that said biological sample is contacted with an antibody, or one of its functional

167
100

- 33 -

fragments, according to the invention, it being possible for said antibody to be, if necessary, labeled.

5 Preferably, said illnesses connected with the overexpression of the IGF-I receptor in said diagnosis method will be cancers.

Said antibody, or one of its functional fragments, can be present in the form of an immunoconjugate or of a labeled antibody so as to obtain a detectable and/or
10 quantifiable signal.

The antibodies labeled according to the invention or their functional fragments include, for example, antibodies called immunoconjugates which can be conjugated, for example, with enzymes such as
15 peroxidase, alkaline phosphatase, α -D-galactosidase, glucose oxydase, glucose amylase, carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, lysozyme, malate dehydrogenase or glucose 6-phosphate dehydrogenase or by a molecule such as biotin, digoxigenin or 5-bromodeoxyuridine.

20 Fluorescent labels can be likewise conjugated to the antibodies or to their functional fragments according to the invention and especially include fluorescein and its derivatives, fluorochrome, rhodamine and its derivatives, GFP (GFP for "Green Fluorescent Protein"),
25 dansyl, umbelliferone etc. In such conjugates, the antibodies of the invention or their functional fragments can be prepared by methods known to the person skilled in the art. They can be coupled to the enzymes or to the fluorescent labels directly or by the
30 intermediary of a spacer group or of a linking group such as a polyaldehyde; like glutaraldehyde, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), diethylene-triaminepentaacetic acid (DPTA), or in the presence of coupling agents such as those mentioned above for the

12/168

- 34 -

therapeutic conjugates. The conjugates containing labels of fluorescein type can be prepared by reaction with an isothiocyanate.

Other conjugates can likewise include
5 chemoluminescent labels such as luminol and the dioxetanes, bio-luminescent labels such as luciferase and luciferin, or else radioactive labels such as iodine¹²³, iodine¹²⁵, iodine¹²⁶, iodine¹³¹, bromine⁷⁷, technetium^{99m}, indium¹¹¹, indium^{113m}, gallium⁶⁷, gallium⁶⁸,
10 ruthenium⁹³, ruthenium⁹⁷, ruthenium¹⁰³, ruthenium¹⁰⁵, mercury¹⁰⁷, mercury²⁰³, rhenium^{99m}, rhenium¹⁸¹, rhenium¹⁸⁵, scandium⁴⁷, tellurium^{121m}, tellurium^{122m}, tellurium^{123m}, thulium¹⁶⁵, thulium¹⁶⁷, thulium¹⁶⁸, fluorine¹⁸, yttrium¹³⁹, iodine¹³¹. The methods known to the person skilled in
15 the art existing for coupling the therapeutic radioisotopes to the antibodies either directly or via a chelating agent such as EDTA, DTPA mentioned above can be used for the radioelements which can be used in diagnosis. It is likewise possible to mention labeling
20 with Na[I¹²⁵] by the chloramine T method [Hunter W.M. and Greenwood F.C. (1962) Nature 194:495] or else with technetium^{99m} by the technique of Crockford et al. (US patent 4 424 200) or attached via DTPA as described by Hnatowich (US patent 4 479 930).

25 Thus, the antibodies, or their functional fragments, according to the invention can be employed in a process for the detection and/or the quantification of an overexpression or of an underexpression, preferably an overexpression, of the
30 IGF-I receptor in a biological sample, characterized in that it comprises the following steps:

a) the contacting of the biological sample with an antibody, or one of its functional fragments, according to the invention; and

169
~~102~~

- 35 -

b) the demonstration of the IGF-IR/antibody complex possibly formed.

In a particular embodiment, the antibodies, or their functional fragments, according to the invention,
5 can be employed in a process for the detection and/or the quantification of the IGF-I receptor in a biological sample, for the monitoring of the efficacy of a prophylactic and/or therapeutic treatment of IGF-dependent cancer or else of psoriasis.

10 More generally, the antibodies, or their functional fragments, according to the invention can be advantageously employed in any situation where the expression of the IGF-I receptor must be observed in a qualitative and/or quantitative manner.

15 Preferably, the biological sample is formed by a biological fluid, such as serum, whole blood, cells, a tissue sample or biopsies of human origin.

Any procedure or conventional test can be employed in order to carry out such a detection and/or dosage.
20 Said test can be a competition or sandwich test, or any test known to the person skilled in the art dependent on the formation of an immune complex of antibody-antigen type. Following the applications according to the invention, the antibody or one of its functional
25 fragments can be immobilized or labeled. This immobilization can be carried out on numerous supports known to the person skilled in the art. These supports can especially include glass, polystyrene, polypropylene, polyethylene, dextran, nylon, or natural or
30 modified cells. These supports can be either soluble or insoluble.

By way of example, a preferred method brings into play immunoenzymatic processes according to the ELISA

130
102

- 36 -

technique, by immunofluorescence, or radio-immunoassay (RIA) technique or equivalent.

Thus, the present invention likewise comprises the kits or sets necessary for carrying out a method of
5 diagnosis of illnesses induced by an overexpression or an underexpression of the IGF-I receptor or for carrying out a process for the detection and/or the quantification of an overexpression or of an underexpression of the IGF-I receptor in a biological
10 sample, preferably an overexpression of said receptor, characterized in that said kit or set comprises the following elements:

- a) an antibody, or one of its functional fragments, according to the invention;
- 15 b) optionally, the reagents for the formation of the medium favorable to the immunological reaction;
- c) optionally, the reagents allowing the demonstration of IGF-IR/antibody complexes produced by the immunological reaction.

20 The invention moreover relates to the use of a composition as a combination product according to the invention, for the preparation of a medicament intended for the prevention or for the treatment of cancer, especially cancers for which said cytotoxic agent or
25 said anti-HER2/neu antibody is generally prescribed and, especially, for which cancers the tumor cells express or overexpress the IGF-I receptor.

A subject of the invention is likewise the use of an antibody according to the invention for the
30 preparation of a medicament intended for the specific targeting of a biologically active compound to cells expressing or overexpressing the IGF-I receptor.

It is intended here by biologically active compound to indicate any compound capable of

171
104

- 37 -

modulating, especially of inhibiting, cell activity, in particular their growth, their proliferation, transcription or gene translation.

A subject of the invention is also an *in vivo* diagnostic reagent comprising an antibody according to the invention, or one of its functional fragments, preferably labeled, especially radiolabeled, and its use in medical imaging, in particular for the detection of cancer connected with the expression or the overexpression by a cell of the IGF-I receptor.

The invention likewise relates to a composition as a combination product or to an anti-IGF-IR/toxin conjugate or radioelement, according to the invention, as a medicament.

Preferably, said composition as a combination product or said conjugate according to the invention will be mixed with an excipient and/or a pharmaceutically acceptable vehicle.

In the present description, pharmaceutically acceptable vehicle is intended to indicate a compound or a combination of compounds entering into a pharmaceutical composition not provoking secondary reactions and which allows, for example, facilitation of the administration of the active compound(s), an increase in its lifespan and/or in its efficacy in the body, an increase in its solubility in solution or else an improvement in its conservation. These pharmaceutically acceptable vehicles are well known and will be adapted by the person skilled in the art as a function of the nature and of the mode of administration of the active compound(s) chosen.

Preferably, these compounds will be administered by the systemic route, in particular by the intravenous route, by the intramuscular, intradermal,

132
10/

- 38 -

intraperitoneal or subcutaneous route, or by the oral route. In a more preferred manner, the composition comprising the antibodies according to the invention will be administered several times, in a sequential
5 manner.

Their modes of administration, dosages and optimum pharmaceutical forms can be determined according to the criteria generally taken into account in the establishment of a treatment adapted to a patient such
10 as, for example, the age or the body weight of the patient, the seriousness of his/her general condition, the tolerance to the treatment and the secondary effects noted.

Other characteristics and advantages of the
15 invention appear in the continuation of the description with the examples and the figures wherein :

Figure 1 represents the *in vitro* evaluation of anti IGF-1R antibodies in the MCF-7 model
From left to right, the histogramme represents:
20 - cells alone, + IGF-1 at 1 ng/ml, + IGF-1 at 10 ng/ml, + IGF-1 at 50 ng/ml;
- alphaIR3, alphaIR3 + IGF-1 at 1 ng/ml, alphaIR3 + IGF-1 at 10 ng/ml, alphaIR3 + IGF-1 at 50 ng/ml;
- 2D10, 2D10 + IGF-1 at 1 ng/ml, 2D10 + IGF-1 at 10
25 ng/ml, 2D10 + IGF-1 at 50 ng/ml;
- 2F2, 2F2 + IGF-1 at 1 ng/ml, 2F2 + IGF-1 at 10 ng/ml, 2F2 + IGF-1 at 50 ng/ml;
- 7G3, 7G3 + IGF-1 at 1 ng/ml, 7G3 + IGF-1 at 10 ng/ml, 7G3 + IGF-1 at 50 ng/ml;
30 - 21E3, 21E3 + IGF-1 at 1 ng/ml, 21E3 + IGF-1 at 10 ng/ml, 21E3 + IGF-1 at 50 ng/ml;
- 12D5, 12D5 + IGF-1 at 1 ng/ml, 12D5 + IGF-1 at 10 ng/ml, 12D5 + IGF-1 at 50 ng/ml;

106

- 12B1, 12B1 + IGF-1 at 1 ng/ml, 12B1 + IGF-1 at 10 ng/ml, 12B1 + IGF-1 at 50 ng/ml;
- 13F5, 13F5 + IGF-1 at 1 ng/ml, 13F5 + IGF-1 at 10 ng/ml, 13F5 + IGF-1 at 50 ng/ml.

5 Figures 2 to 4 represent in vivo evaluation of anti IGF-1R antibodies on DU145.

Exemple 1 : Generation of monoclonal antibodies against IGF-1R

10 Hybridomas were generated by fusion of splenocytes from BALB/c mice immunized with a soluble $\alpha 2$ - $\beta 2$ heterotetrameric recombinant human IGF-1R (R&D System, Minneapolis, USA) and the SP2/0-Ag14 myeloma cell line. The resulting murine antibodies were first screened by
15 ELISA and FACS analysis on MCF-7 cells. Then, a final screen on Sf9-IGF-1r versus Sf9-IR cells was performed to eliminate antibodies recognizing both IGF-1 and IR. The selected MAbs (positives in ELISA and recognizing the wild type receptor on MCF-7 cells) were produced as
20 ascitic fluids and purified by protein A chromatography before testing either in vitro and/or in vivo as summarized in table 1.

	FACSCAN analysis			Isotype	In vitro activity	In vivo activity
	MCF-7	Sf9 IGF-1R+	Sf9 IR+		MCF-7	DU145
2D10	+	+	+	IgG1 κ	+	+
2F2	+	-	-	IgG1 κ	+/-	+/-
6E5	+	+	-	IgG1 κ	+/-	+
7A4	+	+	-	IgG1 κ	-	-
7G3	+	-	-	IgG1 λ	-	-
9E5	+	+	-	IgG1 κ	+/-	-

- 40 -

9F5	+	+	+	Nd	Nd	Nd
10B7	+	-	-	Nd	Nd	Nd
11B6	+	+	-	IgE	Nd	-
12B1	+	+	-	IgG1 κ	+	-
12D5	+	+	-	IgG1 κ	+	Nd
12D8	+	Nd		Nd	Nd	Nd
13F5	+	+	Nd	IgG1 κ	+	Nd
13G10	+	+/-	-	IgG1 λ	+/-	Nd
15B9	+	+	-	IgG1 κ	+/-	-
16A12	+	-	+	IgG1 κ	+/-	-
9D5	+	Nd	-	IgG1 κ	Nd	Nd
13G5	+	+	Nd	IgG1 κ	Nd	+
14H1	-	Nd	+	IgG1 κ	Nd	Nd
15H1	-	Nd	Nd	IgG1 κ	Nd	Nd
18B5	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
20D1	nd	Nd	Nd	IgG1 κ	Nd	-
21B3	-	-	-	Nd	Nd	Nd
13F10	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
14A1	-	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
2B10	+	-	-	IgG1 κ	-	-
3A9	+	+/-	-	IgG1 κ	Nd	Nd
3C9	+	+	-	IgG1 κ	-	-
4G4	+	+	-	IgG1 κ	+	Nd
6F4	+	-	-	IgG1 κ	+/-	-
9E10	+	+/-	-	IgG1 λ	+/-	Nd
14D7	+	+	-	IgG1 κ	Nd	Nd
21E3	+	+	-	IgG2a	+/-	nd

TABLE 1 : Selection of anti-IGF-1R monoclonal
antibodies

Example 2 : In vitro activity of anti-IGF-1R antibodies.

5

Method :

MCF-7 cells from ATCC were routinely cultured in phenol red free-RPMI medium (Invitrogen Corporation, Scotland, UK), 10% FCS (Invitrogen Corporation), 1% L-
10 Glutamine (Invitrogen Corporation). MCF-7 cells were plated in 96-well tissue culture plates at a density of 5×10^4 cells/well in serum-free medium. After 24 hours a dose range of IGF1 from 1 to 50 ng/ml was added to the medium either in absence or in presence at a final
15 concentration of 5 µg/ml of each antibody to be tested. After 3 days, cells were pulsed with 0.5 µCi of [³H]thymidine (Amersham Biosciences AB, Uppsala, Sweden) for 16 hours. The magnitude of [³H]thymidine incorporated into trichloroacetic acid-insoluble DNA
20 was quantified by liquid scintillation counting. Results are expressed as a proliferative index (cpm of cells plus IGF1 plus antibody / cpm of cells plus antibody alone).

25 **Results :**

The *in vitro* evaluation was the first screening of Mabs in terms of mitogenic activity. For these assays, the generated antibodies, produced as ascitic fluids, were added to MCF-7 cells at the same time as IGF1 and
30 compared to the commercially available αIR3 Mab to select antibodies at least as efficacious as this latter antibody. The positive Mabs (5 Mabs) described as (+) in Table 2* of the previous reply are the one giving proliferative indexes <5 when cells were

1764
✓

- 42 -

stimulated with the highest dose of IGF1 (50 ng/ml). Figure 2 shows the *in vitro* activity of four out of the 6 strong *in vitro* inhibitors (2D10, 12D5, 12B1, 13F5). 2F2 and 21E3 Mabs have been considered as a (±)* Mab (5<Proliferative index<15 for the highest concentration of IGF1) and 7G3 and 2B10 were considered as non-neutralizing antibodies (proliferative index>15). It is interesting to notice that the 21E3 is the only Mab of IgG2 isotype.

10

Exemple 3 : In vivo activity of anti-IGF-1R antibodies.

Method :

15 DU145 cells from ATCC were routinely cultured in DMEM medium (Invitrogen Corporation, Scotland, UK), 10% FCS (Invitrogen Corporation), 1% L-Glutamine (Invitrogen Corporation). Cells were split two days before engraftment so that they were in exponential
20 phase of growth. Two million DU145 cells were engrafted in PBS to Swiss nude mice. One day after implantation, animals were divided into groups of 6 mice. Mice were treated s.c. at the opposite of the tumor with 200 µg of each antibody to be tested, 3-times a week. The
25 control group was either treated with a murine isotype control (EC2) in the first screening or PBS for subsequent screenings as it has been shown in the first experiment that no difference in tumor growth was observed between these 2 groups of mice. Tumor volume
30 was measured once a week and calculated by the formula:
 $\pi/6 \times \text{length} \times \text{width} \times \text{height}.$

Results :

Three *in vivo* experiments were performed to test a

137
HES

- 43 -

panel of Mabs. Figure 3 shows that 13F5, 2D10, 6E5 and 13G5 significantly inhibit the *in vivo* growth of DU 145 cells. Statistical analysis (Mann and Whitney test) are shown in Table 2. The 13G5 Mab recognized both IGF-1R and IR and was excluded.

178

First screening		D16	D23	D29	D36	D43
PBS/13F5	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,47	p=0,086	p=0,046	p=0,015	p=0,023

Second screening		D12	D20	D26	D30
PBS/2D10	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,0041	p=0,0017	p=0,0027	p=0,0027
PBS/6E5	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,027	p=0,013	p=0,0092	p=0,019
PBS/12B1	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,11	p=0,11	p=0,067	p=0,11
PBS/2F2	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,18	p=0,067	p=0,050	p=0,14

Third screening		D12	D20	D26	D33
PBS/13G5	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,012	p=0,028	p=0,032	p=0,032
PBS/16A12	Mann-Whitney (Wilcoxon)	p=0,063	p=0,087	p=0,19	p=0,11

Table 2: Statistical analysis of in vivo data

112 179

CLAIMS

1. An isolated antibody, or one of its
5 functional fragments, said antibody or one of its said
fragments being capable of binding to the human
insulin-like growth factor I receptor IGF-IR and, if
necessary, inhibiting the natural attachment of its
10 ligands IGF1 and/or IGF2 and/or capable of specifically
inhibiting the tyrosine kinase activity of said IGF-IR
receptor, characterized in that it comprises:

- a light chain comprising at least one complementarity
determining region CDR chosen from the CDRs of sequence
SEQ ID No. 1, 2 or 3, or at least one CDR whose
15 sequence has at least 80% identity after optimum
alignment with the sequence SEQ ID No. 1, 2 or 3;
and/or

- a heavy chain comprising at least one CDR chosen from
the CDRs of sequence SEQ ID Nos. 4, 5 and 6, or at
20 least one CDR whose sequence has at least 80% identity
after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 4,
5 and 6.

2. The antibody of claim 1, called 13F5 and
characterized in that it comprises a heavy chain of
25 sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N°20
and in that it moreover comprises a light chain of
sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID
N°19.

3. A murine hybridoma capable of secreting an
30 antibody as claimed in one of claims 1 or 2.

4. The murine hybridoma as claimed in claim 3
deposited at the CNCM (Collection Nationale de Cultures
de Microorganismes, Institut Pasteur, Paris, France),
on March 25, 2004 under the number I-3193.

35 5. An isolated antibody, or one of its
functional fragments, said antibody or one of its said
fragments being capable of binding to the human
insulin-like growth factor I receptor IGF-IR and, if
necessary, inhibiting the natural attachment of its

11/3/00

- 46 -

ligands IGF1 and/or IGF2 and/or capable of specifically inhibiting the tyrosine kinase activity of said IGF-IR receptor, characterized in that it comprises:

- a light chain comprising at least one complementarity determining region CDR chosen from the CDRs of sequence SEQ ID No. 7, 8 or 9, or at least one CDR whose sequence has at least 80% identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 7, 8 or 9; and/or
- a heavy chain comprising at least one CDR chosen from the CDRs of sequence SEQ ID Nos. 10, 11 and 12, and wherein the CDR having the sequence SEQ ID No. 11 can be replaced by the CDR having the sequence SEQ ID No. 26, or at least one CDR whose sequence has at least 80% identity after optimum alignment with the sequence SEQ ID No. 10, 11 or 26, and 12.

6. The antibody of claim 5, called 12D5 and characterized in that it comprises a heavy chain of sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N°22 or 23 and in that it moreover comprises a light chain of sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N°21.

7. A murine hybridoma capable of secreting an antibody as claimed in one of claims 5 or 6.

8. The murine hybridoma as claimed in claim 7 deposited at the CNCM, Institut Pasteur, Paris, on April 8, 2004 under the number I-3195.

9. An isolated antibody, or one of its functional fragments, said antibody or one of its said fragments being capable of binding to the human insulin-like growth factor I receptor IGF-IR and, if necessary, inhibiting the natural attachment of its ligands IGF1 and/or IGF2 and/or capable of specifically inhibiting the tyrosine kinase activity of said IGF-IR receptor, characterized in that it comprises:

- a light chain comprising at least one complementarity determining region CDR chosen from the CDRs of sequence SEQ ID No. 13, 14 or 15, or at least one CDR whose sequence has at least 80% identity after optimum

101
285

- 47 -

alignment with the sequence SEQ ID No. 13, 14 or 15;
and/or

- a heavy chain comprising at least one CDR chosen from
the CDRs of sequence SEQ ID Nos. 16, 17 and 18, or at
5 least one CDR whose sequence has at least 80% identity
after optimum alignment with the sequence SEQ ID No.
16, 17 and 18.

10. The antibody of claim 9, called 2D10 and
characterized in that it comprises a heavy chain of
10 sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID N°25
and in that it moreover comprises a light chain of
sequence comprising the amino acid sequence SEQ ID
N°24.

11. A murine hybridoma capable of secreting an
15 antibody as claimed in one of claims 9 or 10.

12. The murine hybridoma as claimed in claim 11
deposited at the CNCM, Institut Pasteur, Paris, on
March 13, 2004 under the number I-3214.

13. An antibody, or one of its functional
20 fragments, characterized in that said antibody is
secreted by the hybridoma as claimed in claim 4, 8 or
12.

14. The antibody or one of its functional
fragments, as claimed in claim 13, characterized in
25 that said antibody is a chimeric antibody and moreover
comprises the light chain and heavy chain constant
regions derived from an antibody of a species
heterologous to the mouse.

15. The chimeric antibody, or one of its
30 functional fragments, as claimed in claim 14,
characterized in that said heterologous species is man.

16. A murine hybridoma deposited at the CNCM,
Institut Pasteur, Paris, on July 1st, 2004 under the
number I-3249.

35 17. A composition comprising by way of active
principle a compound consisting of an antibody, or one
of its functional fragments, as claimed in one of
claims 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13-15 or produced by
hybridoma according to claims 3-4, 7-8, 11-12 or 16.

187
186

- 48 -

18. The composition as claimed in claim 17, characterized in that it comprises, moreover, as a combination product for simultaneous, separate or sequential use, an antibody, a cytotoxic/cytostatic agent and/or an inhibitor of the tyrosine kinase activity respectively of the receptors for IGF-I and/or for EGF.

19. The composition as claimed in one of claims 17 or 18 as a medicament.

20. The use of an antibody, or one of its functional fragments, as claimed in one of claims 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13-15 or produced by hybridoma according to claims 3-4, 7-8, 11-12 or 16 and/or of a composition as claimed in any one of claims 17 to 19 for the preparation of a medicament intended for the prevention or for the treatment of an illness connected with an overexpression and/or an abnormal activation of the IGF-I receptor, and/or connected with a hyperactivation of the transduction pathway of the signal mediated by the interaction of IGF1 or IGF2 with IGF-IR.

21. The use as claimed in claim 20 for the preparation of a medicament intended to inhibit the transformation of normal cells into cells with tumoral character, preferably IGF-dependent, especially IGF1- and/or IGF2-dependent cells.

22. The use as claimed in claim 20 for the preparation of a medicament intended to inhibit the growth and/or the proliferation of tumor cells, preferably IGF-dependent, especially IGF1- and/or IGF2-dependent cells.

23. The use as claimed in one of claims of 20 to 22 for the preparation of a medicament intended for the prevention or for the treatment of cancer.

24. The use as claimed in claim 23, characterized in that said cancer is a cancer chosen from prostate cancer, osteosarcomas, lung cancer, breast cancer, endometrial cancer or colon cancer.

25. The use as claimed in one of claims of 20 to 22 for the preparation of a medicament intended for the

prevention or for the treatment of psoriasis.

26. A method of in vitro diagnosis of illnesses induced by an overexpression or an underexpression of the IGF-I receptor starting from a biological sample in which the abnormal presence of IGF-I receptor is suspected, characterized in that said biological sample is contacted with an antibody as claimed in one of claims 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13-15 or produced by hybridoma according to claims 3-4, 7-8, 11-12 or 16, it being possible for said antibody to be, if necessary, labeled.

184
188

1/3

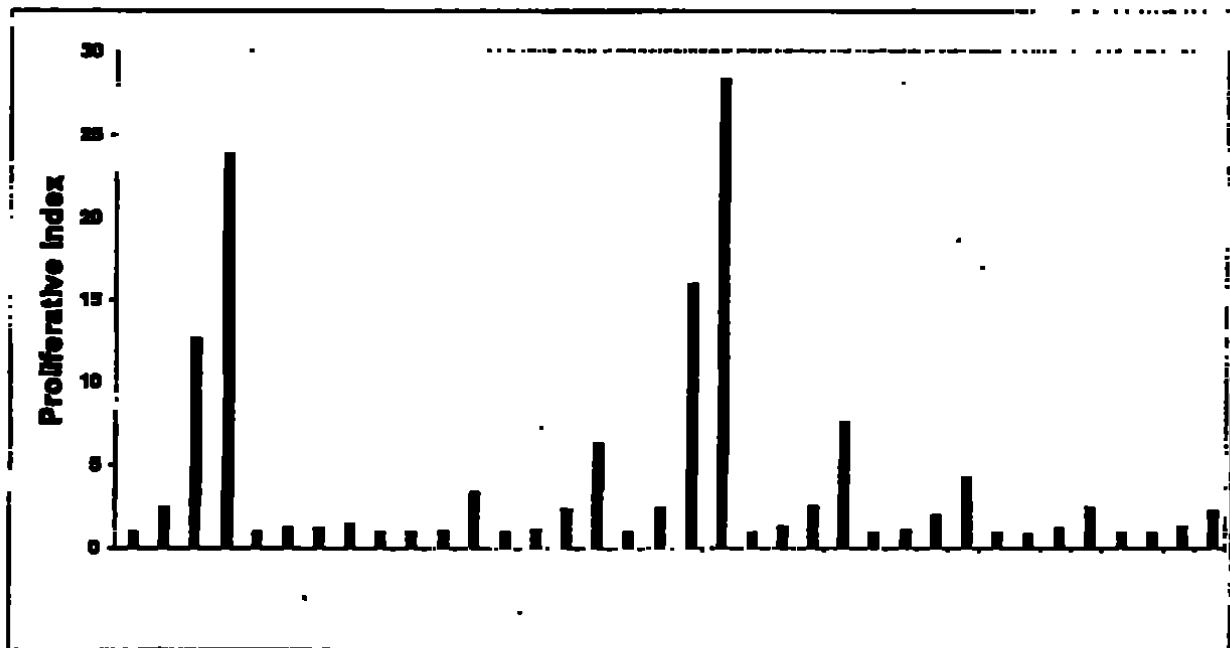


FIGURE 1

BEST AVAILABLE COPY

135
 184

2/3

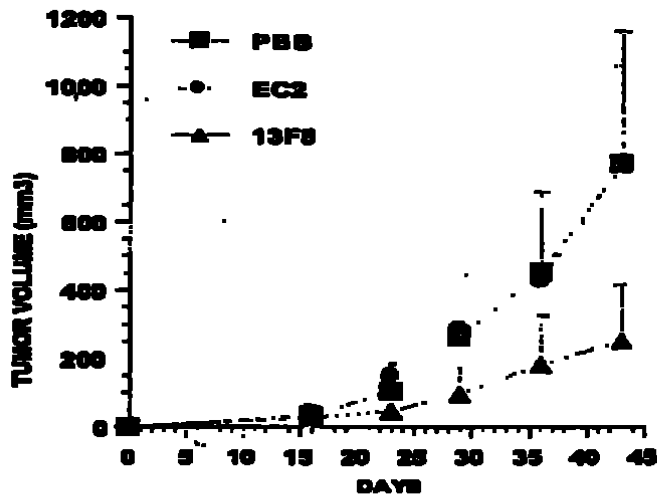


FIGURE 2

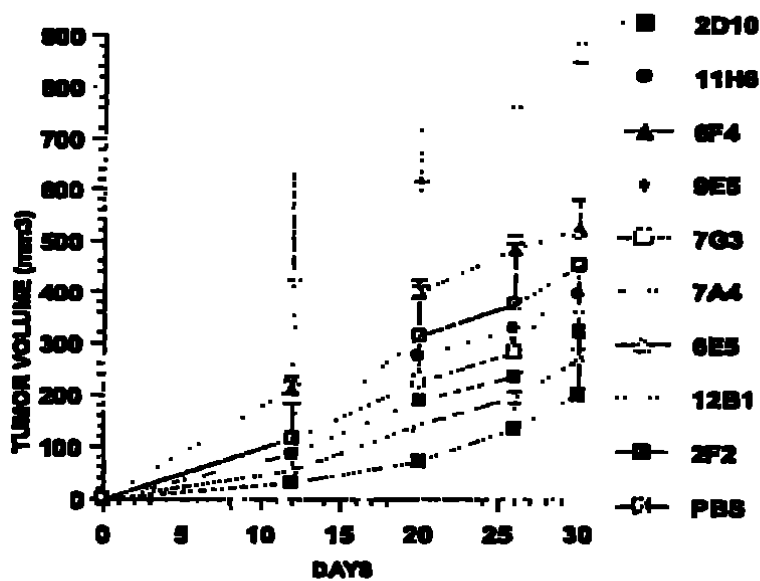


FIGURE 3

BEST AVAILABLE COPY

128
 1290

3/3

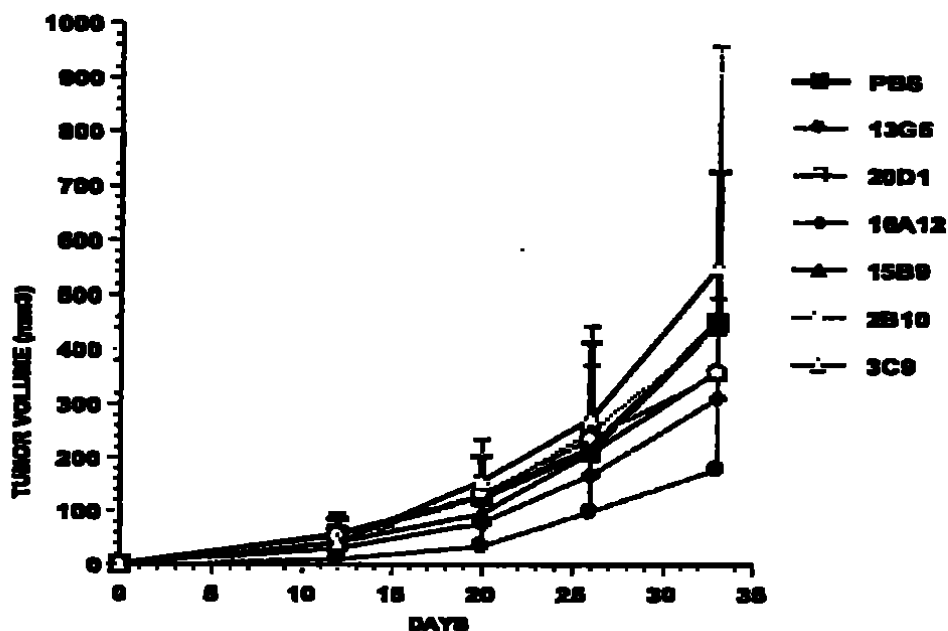


FIGURE 4

BEST AVAILABLE COPY

103
~~120~~ 191

SEQUENCE LISTING

<110> GOETSCH, Lilliane
CORVAIA, Nathalie

<120> Novel anti-IGF-IR antibodies and uses thereof

<130> D22514 - US

<160> 26

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

Arg	Ser	Ser	Gln	Thr	Ile	Ile	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Glu
1				5					10					15	

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser
1				5		

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 3

Phe	Gln	Gly	Ser	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe
1				5					10

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Asp	Tyr	Trp	Met	Asn
1				5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

182
212

<213> Mus musculus

<400> 5

Leu Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Leu Asp Gln Asn Phe Tyr
1 5 10 15

Asp

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Ser Val Ile Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Trp Tyr Phe Asp
1 5 10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Lys Ala Ser Gln Asn Val Val Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

His Gln Tyr Asn Asn Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

189
~~12~~ 2/183

3

Glu Tyr Gly Val Ser
1 5

<210> 11
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 11

Val Ile Trp Gly Gly Arg Asp Thr Tyr Tyr His Ser Pro Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 12

His Glu Gly Met Asp Tyr
1 5

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 13`

Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Asn
1 5 10

<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 14

Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 15

Leu Gln Ser Asp Lys Met Pro Leu Thr
1 5

<210> 16
<211> 5

190
1723-004

4

<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 16

Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 17
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 17

Ser Ile Gly Ser Ala Gly Tyr Ile His Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 18

Glu Gly Gly Leu Val Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 19
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 19

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Thr Ile Ile His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 20

191
H
489

5

<211> 123
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 20

Gln Ala Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Val Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Ser Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Lys Arg Arg Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Ile
35 40 45
Gly Leu Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Leu Asp Gln Asn Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Phe Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Asn Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Ser Val Ile Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110
Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 21

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Val Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Pro Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys His Gln Tyr Asn Asn Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 22

192
181 446

6

<211> 114
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 22

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Glu Tyr
20 25 30
Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Val Ile Trp Gly Gly Arg Asp Thr Tyr Tyr His Ser Pro Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Lys His Glu Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 23
<211> 114
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 23

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Glu Tyr
20 25 30
Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Val Ile Trp Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr His Ser Pro Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Lys His Glu Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

193
126 197

<210> 24
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 24

Glu	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ser	Val	Ala	Thr	Gly
1				5					10					15	
Glu	Lys	Val	Thr	Ile	Arg	Cys	Ile	Thr	Ser	Thr	Asp	Ile	Asp	Asp	Asp
		20						25					30		
Met	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Glu	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Ser	Glu	Gly	Asn	Thr	Leu	Arg	Pro	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Ser
	50					55					60				
Ser	Gly	Tyr	Gly	Thr	Asp	Phe	Val	Leu	Thr	Ile	Glu	Asn	Thr	Leu	Ser
65					70					75					80
Glu	Asp	Val	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Ser	Asp	Lys	Met	Pro	Leu
			85						90					95	
Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys					
			100					105							

<210> 25
<211> 117
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 25

Glu	Val	Asn	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Ile	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr
		20						25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Thr	Pro	Glu	Lys	Arg	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Ser	Ile	Gly	Ser	Ala	Gly	Tyr	Ile	His	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys
	50					55					60				
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Arg	Asn	Ile	Leu	Tyr	Leu
65					70					75					80
Gln	Met	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala
			85					90						95	
Arg	Glu	Gly	Gly	Leu	Val	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		
Val	Thr	Val	Ser	Ala											
			115												

94
~~127~~ 199

8

<210> 26
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 26

Val	Ile	Trp	Gly	Gly	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	His	Ser	Pro	Leu	Lys	Ser
1			5					10						15	

195

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 200

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
GOMEZ MEJIA HECTOR
Apoderado(a) y/o Representante de
PIERRE FABRE MEDICAMENT

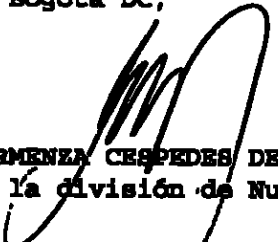
REFERENCIA	Radicación No. 05 74351
	Trámite 2
	Evento 1
	Actuación 416
	Oficio No. 1538
	Folios 1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

Siendo manifestación expresa del interesado de efectuar la publicación "inmediato", está se realizará en la próxima gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC,

18 OCT. 2005


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

adpa10