

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992278 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.03.03

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.03.26

(54) СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ИММУНОГЕННОСТИ

(31) 62/477,257

(32) 2017.03.27

(33) US

(86) PCT/US2018/024316

(87) WO 2018/183182 2018.10.04

(71) Заявитель:
СЕЛДЖИН КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:

Джонсон Джеффри К., Дерт Лоуренс,
Хадживассилиоу Хараламбос, Сунь
Дзеонгхоон, Харихаран Кандасами
(US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В данном документе предусмотрены способы и пути применения, предусматривающие комбинацию антитела к CD20, например ритуксимаба, с белковым терапевтическим средством, например антителом (например, антителом, которое специфически связывается с CD47 человека).

A1

201992278

201992278

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-559109EA/025

СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ИММУНОГЕННОСТИ

1. ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0001] В данном документе предусмотрены способы и пути применения, предусматривающие комбинацию антитела к CD20, например ритуксимаба, с белковым терапевтическим средством, например антителом (например, антителом, которое специфически связывается с CD47 человека).

2. ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Хотя белковые терапевтические средства применяют для лечения ряда заболеваний, они могут вызывать иммунный ответ, включающий выработку антител к лекарственному средству в случае введения субъектам. Это может привести в результате к снижению эффективности терапевтического и/или токсического воздействия. Соответственно, существует потребность в способах снижения этого иммунного ответа.

[0003] CD47, также известный как ассоциированный с интегринами белок (IAP), антиген рака яичника OA3, Rh-родственный антиген и MER6, представляет собой многоспиральный трансмембранный рецептор, принадлежащий к суперсемейству иммуноглобулинов. SIRP α (сигнальный регуляторный белок α), экспрессируемый на макрофагах, взаимодействует с CD47, и это взаимодействие отрицательно контролирует эффекторную функцию врожденных иммунных клеток, такую как фагоцитоз клетки-хозяина. Экспрессия и/или активность CD47 вовлечены в ряд заболеваний и нарушений. Соответственно, существует потребность в видах терапии, нацеленных на CD47.

3. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] В данном документе предусмотрены способы и композиции для снижения иммуногенности у субъекта, включающие введение субъекту антитела к CD20, например ритуксимаба, в комбинации с белковым терапевтическим средством, где иммуногенность снижается по сравнению с иммуногенностью у субъекта в случае введения терапевтического средства отдельно. В определенных аспектах белковое терапевтическое средство представляет собой терапевтическое средство на основе антитела. В определенных аспектах белковое терапевтическое средство представляет собой слитый белок, например Fc-содержащий слитый белок, например растворимый рецепторный слитый белок. В определенных аспектах белковое терапевтическое средство представляет собой цитокин. В определенных аспектах белковое терапевтическое средство представляет собой интерлейкин. В определенных аспектах белковое терапевтическое средство не является ферментом. В определенных аспектах субъектом является человек.

[0005] В определенных аспектах относительно способов и композиций, предусмотренных в данном документе, белковое терапевтическое средство представляет собой антитело, где терапевтическое средство на основе антитела представляет собой антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0006] В конкретных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR1 VH, содержащую SEQ ID NO: 50, CDR2 VH, содержащую SEQ ID NO: 72, CDR3 VH, содержащую SEQ ID NO: 52, CDR1 VL, содержащую SEQ ID NO: 53, CDR2 VL, содержащую SEQ ID NO: 71, и CDR3 VL, содержащую SEQ ID NO: 55.

[0007] В конкретных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR1 VH, содержащую SEQ ID NO: 50, CDR2 VH, содержащую SEQ ID NO: 51, CDR3 VH, содержащую SEQ ID NO: 52, CDR1 VL, содержащую SEQ ID NO: 53, CDR2 VL, содержащую SEQ ID NO: 54, и CDR3 VL, содержащую SEQ ID NO: 55.

[0008] В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30. В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47. В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30, и VL, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47.

[0009] В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG, выбранный из группы, состоящей из изотипа IgG1, изотипа IgG2, изотипа IgG3 и изотипа IgG4. В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG, выбранный из IgG4P и IgG4PE.

[0010] В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент является компонентом фармацевтической композиции, содержащей антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель.

[0011] В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой химерное, гуманизированное или полностью человеческое антитело.

[0012] В определенных аспектах способы, предусмотренные в данном документе, дополнительно включают введение второго терапевтического средства, например, низкомолекулярного терапевтического средства, такого как химиотерапевтическое терапевтическое средство. В определенных аспектах указанная химиотерапия представляет собой лучевую терапию.

[0013] В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг. В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450 или 500 мг/м². В

определенных аспектах антитело к CD20 представляет собой ритуксимаб. В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг, и антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450 или 500 мг/м². В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед белковым терапевтическим средством. В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят за 1, 2, 3, 4, 5 или 6 недель перед белковым терапевтическим средством. В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят за 1, 2, 3, 4, 5 или 6 дней перед белковым терапевтическим средством. В определенных аспектах ритуксимаб вводят перед антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом. В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят за 1, 2, 3, 4, 5 или 6 недель перед антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом. В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят за 1, 2, 3, 4, 5 или 6 дней перед антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0014] В определенных аспектах способы, предусмотренные в данном документе, не включают введение субъекту ингибитора протеасом. В определенных аспектах способы, предусмотренные в данном документе, не включают введение субъекту бортезомиба. В определенных аспектах способы, предусмотренные в данном документе, не включают введение субъекту метотрексата.

[0015] В данном документе предусмотрены способы лечения рака, при этом способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающего фрагмента, где способ дополнительно включает введение субъекту антитела к CD20, например ритуксимаба. В определенных аспектах антитело к CD20 представляет собой ритуксимаб. В определенных аспектах субъектом является человек. В определенных аспектах способы, предусмотренные в данном документе, дополнительно включают применение лучевой терапии или химиотерапии. В определенных аспектах способы, предусмотренные в данном документе, дополнительно включают введение другого противоракового средства. В определенных аспектах рак представляет собой гематологический рак. В определенных аспектах рак представляет собой солидный рак. В некоторых аспектах рак представляет собой множественную миелому, неходжкинскую лимфому, острый миелоидный лейкоз (AML), рак молочной железы (например, тройной негативный рак молочной железы), рак мочевого пузыря, немелкоклеточный рак легкого/карциному, гепатоцеллюлярную карциному (HCC), саркому или рак головы и шеи. В определенных аспектах рак представляет собой множественную миелому. В определенных аспектах рак представляет собой неходжкинскую лимфому. В определенных аспектах неходжкинская лимфома является CD20-положительной. В определенных аспектах неходжкинская лимфома является рецидивирующей или

рефрактерной. В конкретных аспектах субъект ранее получал схему терапии, предусматривающую антитело к CD20, например ритуксимаб.

[0016] В данном документе предусмотрены способы лечения рака, при этом способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенных аспектах субъектом является человек. В определенных аспектах способы, предусмотренные в данном документе, дополнительно включают применение лучевой терапии или химиотерапии. В определенных аспектах способы, предусмотренные в данном документе, дополнительно включают введение другого противоракового средства. В определенных аспектах рак представляет собой гематологический рак. В определенных аспектах рак представляет собой солидный рак. В некоторых аспектах рак представляет собой множественную миелому, неходжкинскую лимфому, острый миелоидный лейкоз (AML), рак молочной железы (например, тройной негативный рак молочной железы), рак мочевого пузыря, немелкоклеточный рак легкого/карциному, гепатоцеллюлярную карциному (HCC), саркому или рак головы и шеи. В определенных аспектах рак представляет собой множественную миелому. В определенных аспектах рак представляет собой неходжкинскую лимфому. В определенных аспектах неходжкинская лимфома является CD20–положительной. В определенных аспектах неходжкинская лимфома является рецидивирующей или рефрактерной. В конкретных аспектах субъект ранее получал схему терапии, предусматривающую антитело к CD20, например ритуксимаб.

[0017] В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг. В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450 или 500 мг/м². В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0018] В определенных аспектах способ не предусматривает введение субъекту ингибитора протеасом. В определенных аспектах способ не предусматривает введение субъекту бортезомиба. В определенных аспектах способ не предусматривает введение субъекту метотрексата.

[0019] В определенных аспектах в отношении способов лечения рака, предусмотренных в данном документе, белковое терапевтическое средство представляет собой антитело, где терапевтическое средство на основе антитела представляет собой антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0020] В конкретных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR1 VH, содержащую SEQ ID NO: 50, CDR2 VH, содержащую SEQ ID NO: 72, CDR3 VH, содержащую SEQ ID NO: 52, CDR1 VL, содержащую SEQ ID NO: 53, CDR2 VL, содержащую SEQ ID NO: 71, и CDR3 VL, содержащую SEQ ID NO: 55.

[0021] В конкретных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR1 VH, содержащую SEQ ID NO: 50, CDR2 VH, содержащую SEQ ID NO: 51, CDR3 VH, содержащую SEQ ID NO: 52, CDR1 VL, содержащую SEQ ID NO: 53, CDR2 VL, содержащую SEQ ID NO: 54, и CDR3 VL, содержащую SEQ ID NO: 55.

[0022] В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30. В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47. В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30, и VL, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47.

[0023] В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG, выбранный из группы, состоящей из изотипа IgG1, изотипа IgG2, изотипа IgG3 и изотипа IgG4. В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG, выбранный из IgG4P и IgG4PE. В определенных аспектах антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным, гуманизированным или полностью человеческим.

4. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

4.1 Способы

4.1.1 Способы снижения иммуногенности

[0024] В данном документе предусмотрены способы снижения иммуногенности у субъекта, включающие введение субъекту антитела к CD20, например ритуксимаба, в комбинации с белковым терапевтическим средством, где иммуногенность снижается по сравнению с иммуногенностью у субъекта в случае введения белкового терапевтического средства отдельно. В определенных вариантах осуществления белковое терапевтическое средство представляет собой терапевтическое средство на основе антитела. В определенных вариантах осуществления белковое терапевтическое средство представляет собой цитокин. В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой костный морфогенетический белок (BMP), эритропоэтин (EPO), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), гранулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерферон альфа (IFN- α), интерферон бета (IFN- β), интерлейкин 2 (IL-2), интерлейкин 11 (IL-11) или интерферон гамма (IFN- γ). В определенных вариантах осуществления белковое терапевтическое средство представляет собой интерлейкин. В определенных вариантах осуществления белковое терапевтическое средство не является ферментом.

[0025] В определенных вариантах осуществления способов, предусмотренных в данном документе, белковое терапевтическое средство представляет собой терапевтическое средство на основе антитела, где терапевтическое средство на основе антитела представляет собой антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0026] В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент является компонентом фармацевтической композиции, содержащей антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель.

[0027] В определенных вариантах осуществления способы, предусмотренные в данном документе, включают применение химиотерапии. В конкретных вариантах осуществления указанная химиотерапия представляет собой лучевую терапию.

[0028] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед и/или одновременно с белковым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед белковым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят одновременно с белковым терапевтическим средством.

[0029] В определенных вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед и/или одновременно с антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом. В определенных вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом. В определенных вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят одновременно с антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0030] В определенных вариантах осуществления способы, предусмотренные в данном документе, не включают введение субъекту ингибитора протеасом. В определенных вариантах осуществления способы, предусмотренные в данном документе, не включают введение субъекту бортезомиба. В определенных вариантах осуществления способы, предусмотренные в данном документе, не включают введение субъекту метотрексата.

[0031] Иммуногенность может быть измерена любым способом, известным специалисту в данной области техники. В определенных вариантах осуществления иммуногенность измеряют путем определения количества и/или концентрации антител к лекарственному средству, присутствующих в сыворотке. В определенных вариантах осуществления иммуногенность измеряют путем определения титра антител к лекарственному средству, присутствующих в сыворотке. В определенных вариантах осуществления иммуногенность измеряют путем определения количества нейтрализованного белкового терапевтического средства на объем сыворотки. В некоторых вариантах осуществления наличие иммуногенности обнаруживают по

возникновению анафилаксии, синдрома высвобождения цитокинов, инфузионных реакций, отсроченной гиперчувствительности и/или перекрестной реактивности в отношении эндогенных белков. В определенных вариантах осуществления иммуногенность измеряют с помощью скринингового анализа. В конкретных вариантах осуществления скрининговый анализ представляет собой иммуноферментный анализ с прямым связыванием (ELISA), мостиковый ELISA, анализ радиоиммунопреципитации (RIPA), анализ поверхностного плазмонного резонанса (SPR), Бетезда–анализ или мостиковый анализ электрохемилюминесценции. В определенных вариантах осуществления иммуногенность измеряют с помощью анализа нейтрализации. В конкретных вариантах осуществления анализ нейтрализации представляет собой биологический анализ на основе клеток или не клеточный анализ конкурентного связывания лиганда. В определенных вариантах осуществления антитела к лекарственному средству связываются с белковым терапевтическим средством. В определенных вариантах осуществления антитела к лекарственному средству нейтрализуют белковое терапевтическое средство. В определенных вариантах осуществления антитела к лекарственному средству связываются с белковым терапевтическим средством и нейтрализуют его.

[0032] В определенных аспектах иммуногенность измеряют через одну неделю после первой дозы белкового терапевтического средства. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через две недели после первой дозы белкового терапевтического средства. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через три недели после первой дозы белкового терапевтического средства. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через четыре недели после первой дозы белкового терапевтического средства. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через пять недель после первой дозы белкового терапевтического средства. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через шесть недель после первой дозы белкового терапевтического средства.

[0033] В определенных аспектах иммуногенность измеряют еженедельно после первой дозы белкового терапевтического средства. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через одну неделю после первой дозы белкового терапевтического средства, а затем еженедельно. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через две недели после первой дозы белкового терапевтического средства, а затем еженедельно. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через три недели после первой дозы белкового терапевтического средства, а затем еженедельно. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через четыре недели после первой дозы белкового терапевтического средства, а затем еженедельно. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через пять недель после первой дозы белкового терапевтического средства, а затем еженедельно. В определенных аспектах иммуногенность измеряют через шесть недель после первой дозы белкового

[0037] В определенных аспектах иммуногенность измеряют через одну неделю после первой дозы белкового терапевтического средства. В определенных аспектах

[0041] В некоторых аспектах количество В–клеток измеряют еженедельно после первой дозы антитела к CD20, например ритуксимаба. В определенных аспектах антитело к CD20 представляет собой ритуксимаб. В определенных аспектах количество В–клеток измеряют через одну неделю после первой дозы ритуксимаба, а затем еженедельно. В определенных аспектах количество В–клеток измеряют через две недели после первой дозы ритуксимаба, а затем еженедельно. В определенных аспектах количество В–клеток измеряют через три недели после первой дозы ритуксимаба, а затем еженедельно. В определенных аспектах количество В–клеток измеряют через четыре недели после первой дозы ритуксимаба, а затем еженедельно. В определенных аспектах количество В–клеток измеряют через пять недель после первой дозы ритуксимаба, а затем еженедельно. В определенных аспектах количество В–клеток измеряют через шесть недель после первой дозы ритуксимаба, а затем еженедельно. В определенных аспектах количество В–клеток измеряют каждую вторую неделю после первой дозы ритуксимаба.

4.1.2 Способы лечения рака

[0042] В данном документе предусмотрены способы лечения рака, где способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающего фрагмента, где способ дополнительно включает введение субъекту антитела к CD20, например ритуксимаба. В определенных вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой ритуксимаб. Также в данном документе предусмотрены способы лечения рака, при этом способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0043] В определенных вариантах осуществления способы лечения рака, предусмотренные в данном документе, дополнительно включают применение лучевой терапии или химиотерапии. В определенных вариантах осуществления способы, предусмотренные в данном документе, дополнительно включают введение другого противоракового средства. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой гематологический рак. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой солидный рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой множественную миелому, неходжкинскую лимфому, острый миелоидный лейкоз (AML), рак молочной железы (например, тройной негативный рак молочной железы), рак мочевого пузыря, немелкоклеточный рак легкого/карциному, гепатоцеллюлярную карциному (HCC), саркому или рак головы и шеи. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой неходжкинскую лимфому. В определенных вариантах осуществления неходжкинская лимфома является CD20–положительной. В определенных вариантах осуществления неходжкинская лимфома является рецидивирующей или рефрактерной. В определенных вариантах осуществления субъект ранее получал лечение с помощью антитела к CD20, например ритуксимаба.

[0044] В определенных вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед и/или одновременно с антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом. В определенных вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой ритуксимаб. В определенных вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом. В определенных вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят одновременно с антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0045] В определенных вариантах осуществления способ не предусматривает введение субъекту ингибитора протеасом. В определенных вариантах осуществления способ не предусматривает введение субъекту бортезомиба. В определенных вариантах осуществления способ не предусматривает введение субъекту метотрексата. В определенных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту метотрексата.

[0046] В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент является компонентом фармацевтической композиции, содержащей антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель.

[0047] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы защиты против состояния или нарушения, такого как рак, с применением антитела к CD47, описанного в данном документе, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом.

[0048] В конкретных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы контроля, лечения, предупреждения или защиты против рака, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе, которые специфически связываются с CD47 (например, CD47 человека) отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом. В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрен способ облегчения, ингибирования или уменьшения прогрессирования или тяжести одного или нескольких симптомов, ассоциированных с раком.

[0049] Используемый в данном документе термин "вводить" или "введение" относится к действию инъекции или иным образом физической доставки вещества (например, антитела к CD20, например, ритуксимаба или антитела к CD47, предусмотренного в данном документе, или его антигенсвязывающего фрагмента) субъекту или пациенту (например, человеку), как например, с помощью мукозального, местного, внутрикожного, парентерального, внутривенного, подкожного, внутримышечного способов доставки и/или любого другого способа физической доставки, описанного в данном документе или известного из уровня техники. В определенных вариантах осуществления введение антитела к CD20, например

ритуксимаба, осуществляют внутривенно. В определенных вариантах осуществления введение антитела к CD47, предусмотренного в данном документе, осуществляют внутривенно. В определенных вариантах осуществления введение ритуксимаба и антитела к CD47, предусмотренных в данном документе, осуществляют внутривенно.

[0050] Используемый в данном документе термин "эффективное количество" относится к количеству композиции (например, антитела или фармацевтической композиции, предусмотренных в данном документе, или антитела к CD20, например, ритуксимаба, или фармацевтической композиции, предусмотренных в данном документе), которое является достаточным для достижения конкретного результата, например, уменьшения и/или облегчения тяжести и/или продолжительности данного состояния, нарушения или заболевания (например, рака, метастазирования или ангиогенеза) и/или симптома, связанного с ними. Такой термин также включает количество, необходимое для уменьшения, замедления или облегчения распространения или прогрессирования данного заболевания, уменьшения, замедления или облегчения рецидива, развития или начала данного заболевания и/или для улучшения или усиления профилактического или терапевтического эффекта(ов) другой терапии (например, терапии, отличной от антител к CD47, предусмотренных в данном документе). В некоторых вариантах осуществления "эффективное количество", как используется в данном документе, относится к количеству антитела к CD20, например ритуксимаба, связанному со снижением иммуногенности белкового терапевтического средства, как описано в данном документе.

[0051] Дозы антитела к CD20, например ритуксимаба, например, для введения в комбинации с белковым терапевтическим средством, таким как антитело к CD47, могут включать от приблизительно 0,1 мг/кг веса тела до приблизительно 100 мг/кг веса тела. Дозы ритуксимаба, например, для введения в комбинации с белковым терапевтическим средством, таким как антитело к CD47, могут включать от приблизительно 25 мг/м² до приблизительно 1500 мг/м². В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 0,1 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1 мг/кг, 2 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 15 мг/кг, 20 мг/кг, 25 мг/кг, 30 мг/кг, 50 мг/кг, 75 мг/кг, 100 мг/кг или больше. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 0,1, 0,3, 0,5, 1, 2, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75 или 100 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 750, 1000, 1250, 1500 мг/м² или больше. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, или 500 мг/м². В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 375 мг/м².

[0052] Частота введения антитела к CD20, например ритуксимаба, может варьироваться, например, от двух раз в день до одного раза в месяц. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325,

350, 375, 400, 425, 450, 475, или 500 мг/м², один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, или 500 мг/м², каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, или 500 мг/м², каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 375 мг/м², один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 375 мг/м², каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 375 мг/м², каждые четыре недели.

[0053] Дозы антитела к CD47 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, для введения в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом, могут включать от приблизительно 0,1 мг/кг веса тела до приблизительно 100 мг/кг веса тела. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD47 вводят субъекту в дозе, составляющей 0,1 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1 мг/кг, 2 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 15 мг/кг, 20 мг/кг, 25 мг/кг, 30 мг/кг, 50 мг/кг, 75 мг/кг, 100 мг/кг или больше. В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,1, 0,3, 0,5, 1, 2, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75 или 100 мг/кг. В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг.

[0054] Частота дозирования антитела к CD47 или его антигенсвязывающего фрагмента может варьироваться, например, от двух раз в день до одного раза в неделю. В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг, один раз в неделю. В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг, два раза в неделю. В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 8 мг/кг, два раза в неделю. В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 20 мг/кг, один раз в неделю.

[0055] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят субъекту в дозе, составляющей 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 750, 1000, 1250, 1500 мг/м², и антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,1, 0,3, 0,5, 1, 2, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75 или 100 мг/кг. В определенных вариантах осуществления ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, или 500 мг/м², и антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе,

связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 20 мг/кг, один раз в неделю.

[0061] Используемый в данном документе термин "в комбинации" в контексте введения других видов терапии относится к применению более чем одного вида терапии. Использование термина "в комбинации" не ограничивает порядок применения видов терапии. Виды терапии можно назначать, например, серийно, последовательно, одновременно или параллельно.

[0062] В определенных вариантах осуществления способов, предусмотренных в данном документе, антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед белковым терапевтическим средством, например антителом к CD47. В определенных вариантах осуществления способов, предусмотренных в данном документе, антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят одновременно с белковым терапевтическим средством, например антителом к CD47. В определенных вариантах осуществления способов, предусмотренных в данном документе, антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят после белкового терапевтического средства, например антитела к CD47. В определенных вариантах осуществления способов, предусмотренных в данном документе, антитело к CD20, например ритуксимаб, вводят перед и одновременно с белковым терапевтическим средством, например антителом к CD47.

[0063] Используемые в данном документе термины "субъект" и "пациент" используются взаимозаменяемо. Как используется в данном документе, субъект представляет собой отличное от примата млекопитающее (например, коровы, свиньи, лошади, кошки, собаки, козы, кролики, крысы, мыши и т. д.) или примат (например, обезьяна и человек), например человек. В одном варианте осуществления субъектом является млекопитающее, например человек, у которого диагностировано состояние или нарушение, предусмотренное в данном документе (например, рак, метастазирование или ангиогенез). В другом варианте осуществления субъект является млекопитающим, например человеком, с риском развития состояния или нарушения, предусмотренного в данном документе (например, рак, метастазирование или ангиогенез). В другом варианте осуществления субъектом является человек.

[0064] Используемый в данном документе термин "гематологический рак" относится к раку крови и включает, среди прочих, лейкемию, лимфому и миелому. "Лейкемия" относится к раку крови, при котором образуется слишком много лейкоцитов, которые неэффективны в борьбе с инфекцией, вытесняя таким образом другие клетки, составляющие кровь, такие как тромбоциты и эритроциты. Понятно, что случаи лейкемии классифицируются как острые или хронические. Некоторые формы лейкемии включают без ограничения острый лимфоцитарный лейкоз (ALL); острый миелоидный лейкоз (AML); хронический лимфолейкоз (CLL); хронический миелогенный лейкоз (CML); миелопролиферативное нарушение/новообразование (MPDS) и синдром миелодисплазии. "Лимфома" может относиться, среди прочих, к лимфоме Ходжкина, как индолентной, так и агрессивной неходжкинской лимфоме, лимфоме Беркитта и фолликулярной лимфоме

(мелкоклеточной и крупноклеточной). Миелома может относиться к множественной миеломе (ММ), гигантоклеточной миеломе, миеломе тяжелых цепей и миеломе легких цепей или миеломе Бенс–Джонса. В определенных вариантах осуществления гематологический рак представляет собой множественную миелому. В определенных вариантах осуществления гематологический рак представляет собой неходжкинскую лимфому.

[0065] Неограничивающие примеры состояния, которое можно лечить или контролировать с помощью антитела к CD47, описанного в данном документе, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом, включают гематологический рак и/или солидные опухоли, а также заболевания или нарушения, связанные с aberrантной экспрессией CD47, активностью и/или передачей сигналов, в том числе без ограничения, например, гематологический рак и/или солидные опухоли. Гематологические раковые заболевания включают, например, лейкемию, лимфому и миелому. Некоторые формы лейкемии включают без ограничения острый лимфоцитарный лейкоз (ALL); острый миелоидный лейкоз (AML); хронический лимфолейкоз (CLL); хронический миелогенный лейкоз (CML); миелопролиферативное нарушение/новообразование (MPDS) и синдром миелодисплазии. Определенные формы лимфомы включают без ограничения лимфому Ходжкина, как индолентную, так и агрессивную неходжкинскую лимфому, лимфому Беркитта и фолликулярную лимфому (мелкоклеточные и крупноклеточные). Определенные формы миеломы включают без ограничения множественную миелому (ММ), гигантоклеточную миелому, миелому тяжелой цепи и легкой цепи или миелому Бенс–Джонса. Сольидные опухоли включают, например, опухоли молочной железы, опухоли яичников, опухоли легких, опухоли поджелудочной железы, опухоли предстательной железы, меланомы, колоректальные опухоли, опухоли легких, опухоли головы и шеи, опухоли мочевого пузыря, опухоли пищевода, опухоли печени и опухоли почек.

[0066] Симптомы, ассоциированные с раком и другими неопластическими нарушениями, включают, например, воспаление, лихорадку, общее недомогание, лихорадку, боль, часто локализирующуюся в воспаленном участке, потерю аппетита, потерю веса, отек, головную боль, усталость, сыпь, анемию, мышечную слабость, мышечную усталость и абдоминальные симптомы, такие как, например, боль в животе, диарея или запор.

[0067] В конкретных аспектах настоящего изобретения предусмотрены антитела к CD47, применимые отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом, в лечении, задержке прогрессирования, препятствовании, предупреждении рецидива или облегчении симптома рака (например, ММ, NHL, AML, рак молочной железы (например, тройной негативный рак молочной железы), рак мочевого пузыря, немелкоклеточный рак легкого/карцинома, гепатоцеллюлярная карцинома (HCC), саркома и рак головы и шеи). Например, описанные в данном документе антитела к CD47 применимы отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом, в

лечении гематологических злокачественных новообразований и/или опухолей, например гематологических злокачественных новообразований и/или опухолей. Например, описанные в данном документе антитела к CD47 применимы в лечении CD47+ опухолей. Как неограничивающий пример, описанные в данном документе антитела к CD47 применимы в лечении неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), острого миелоидного лейкоза (AML), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелоидного лейкоза (CML), множественной миеломы (MM), рака молочной железы (например, тройной негативный рак молочной железы), рака яичников, рака головы и шеи, рака мочевого пузыря, меланомы, колоректального рака, рака поджелудочной железы, рака легкого, лейомиомы, лейомиосаркомы, глиомы, глиобластомы и т. д. Солидные опухоли включают, например, опухоли молочной железы, опухоли яичников, опухоли легкого (например, NSCLC), опухоли поджелудочной железы, опухоли предстательной железы, меланомы, опухоли колоректального канала, опухоли легкого, опухоли головы и шеи, опухоли мочевого пузыря, опухоли пищевода, опухоли печени (например, гепатоцеллюлярная карцинома), саркому и опухоли почек.

[0068] В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ лечения рака (например, гематологического нарушения/рака или солидного рака) у субъекта, включающий введение (например, одновременное или последовательное введение) субъекту, нуждающемуся в этом, (i) антитела к CD47, описанного в данном документе, или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающегося с CD47, таким как CD47 человека, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом, и (ii) другого противоракового средства. В некоторых вариантах осуществления противораковое средство представляет собой химиотерапевтическое средство (например, блокатор разборки микротрубочек, антиметаболит, ингибитор топоизомеразы и средство для перекрестного сшивания ДНК или повреждающее средство). В некоторых вариантах осуществления противораковое средство представляет собой ингибитор тирозинкиназы (например, GLEEVEC[®] (иматиниба мезилат) или SUTENT[®] (SU11248 или сунитиниб)). Другие неограничивающие примеры ингибиторов тирозинкиназы включают 706 и AMN107 (нилотиниб), RAD001, PKC412, гефитиниб (IRESSA[™]), эрлотиниб (TARCEVA[®]), сорафениб (NEXAVAR[®]), пазопаниб (VOTRIENT[™]), акситиниб, бозутиниб, сидираниб (RECENTIN[®]), SPRYCEL[®] (дазатиниб), лапатиниб (TYKERB[®]), лестауртиниб, нератиниб, nilотиниб (TASIGNA[®]), семаксаниб, тоцераниб (PALLADIA[™]), вандетаниб (ZACTIMA[™]) и ваталаниб.

[0069] В конкретном аспекте в данном документе предусмотрен способ лечения рака (например, гематологического нарушения/рака или солидного рака) у субъекта, включающий введение (например, одновременное или последовательное введение) субъекту, нуждающемуся в этом, (i) антитела к CD47, описанного в данном документе, или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающегося с CD47, таким как CD47 человека, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом, и (ii) лучевой терапии.

[0070] В конкретном аспекте в данном документе предусмотрен способ стимуляции (например, индукции или увеличения) фагоцитоза, например опосредованного макрофагами фагоцитарного уничтожения опухолевых клеток, включающий приведение в контакт эффективного количества антитела к CD47, описанного в данном документе, которое специфически связывается с CD47 человека, с опухолевыми клетками, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом. В данном документе также предусмотрен способ стимуляции (например, индукции или увеличения) фагоцитоза, например, опосредованного макрофагами фагоцитарного уничтожения опухолевых клеток у субъекта, нуждающегося в этом (например, субъекта с опухолевыми клетками, такими как опухолевые клетки, экспрессирующие CD47), включающий введение субъекту эффективного количества антитела к CD47, описанного в данном документе, которое специфически связывается с CD47 человека, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом.

[0071] В конкретном аспекте в данном документе предусмотрен способ уменьшения объема опухоли, включающий приведение в контакт эффективного количества антитела к CD47, описанного в данном документе, которое специфически связывается с CD47 человека, с опухолью, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом. В данном документе также предусмотрен способ уменьшения объема опухоли у субъекта, нуждающегося в этом (например, субъекта с опухолью, такой как опухоль, экспрессирующая CD47), включающий введение субъекту эффективного количества антитела к CD47, описанного в данном документе, которое специфически связывается с CD47 человека, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом.

[0072] В конкретном аспекте в данном документе предусмотрен способ ингибирования роста или пролиферации раковых клеток, включающий приведение в контакт эффективного количества антитела к CD47, описанного в данном документе, которое специфически связывается с CD47 человека, с раковыми клетками, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом. В данном документе также предусмотрен способ ингибирования роста или пролиферации раковых клеток у субъекта, нуждающегося в этом (например, субъекта с раковыми клетками, такими как экспрессирующие CD47 раковые клетки), включающий введение субъекту эффективного количества антитела к CD47, описанного в данном документе, которое специфически связывается с CD47 человека, отдельно или в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом.

4.2 Композиции

4.2.1 Белковые терапевтические средства

[0073] Белковые терапевтические средства, применяемые в описанных в данном документе способах, например, в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом, могут представлять собой любые белковые терапевтические средства, известные специалисту в данной области техники. В определенных вариантах

осуществления белковое терапевтическое средство представляет собой цитокин. В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой костный морфогенетический белок (BMP), эритропоэтин (EPO), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), гранулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерферон альфа (IFN- α), интерферон бета (IFN- β), интерлейкин 2 (IL-2), интерлейкин 11 (IL-11) или интерферон гамма (IFN- γ). В определенных вариантах осуществления белковое терапевтическое средство представляет собой интерлейкин. В определенных вариантах осуществления белковое терапевтическое средство не является ферментом.

[0074] В определенных вариантах осуществления белковое терапевтическое средство представляет собой слитый белок, например Fc-содержащий слитый белок, например растворимый рецепторный слитый белок.

4.2.2 Антитела

[0075] Белковые терапевтические средства, применяемые в описанных в данном документе способах, например, в комбинации с антителом к CD20, например ритуксимабом, могут представлять собой терапевтические средства на основе антител. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой ритуксимаб. Ритуксимаб (RITUXAN®, Biogen/Genentech) является химерным мышинным/человеческим моноклональным антителом IgG₁-каппа, направленным против антигена CD20. Ритуксимаб характеризуется примерной молекулярной массой 145 кДа и аффинностью связывания с антигеном CD20, составляющей примерно 8,0 нМ. Ритуксимаб продуцируется суспензионной культурой клеток млекопитающих (яичника китайского хомяка) в питательной среде, содержащей антибиотик гентамицин. Гентамицин в конечном продукте не обнаруживается. RITUXAN® представляет собой стерильный, прозрачный, бесцветный жидкий концентрат без консервантов для внутривенного введения. RITUXAN® поставляется в концентрации 10 мг/мл в одноразовых флаконах по 100 мг/10 мл или 500 мг/50 мл. Продукт составляют из полисорбата 80 (0,7 мг/мл), хлорида натрия (9 мг/мл), дигидрата цитрата натрия (7,35 мг/мл) и воды для инъекций. Значение pH составляет 6,5. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой окрелизумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой офатумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой обинутумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой тозитумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой ибритумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой окаратумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD20 представляет собой велтумаб.

[0076] Используемые в данном документе, и если не указано иное, термины "приблизительно" или "примерно" означают в пределах плюс или минус 10% от данного значения или диапазона. В тех случаях, когда требуется целое число, термины означают в

пределах плюс или минус 10% от заданного значения или диапазона, округленных в большую или меньшую сторону до ближайшего целого числа.

[0077] Используемые в данном документе термины "антитело", и "иммуноглобулин", и "Ig" являются терминами из уровня техники, и могут использоваться в данном документе взаимозаменяемо, и относятся к молекуле с антигенсвязывающим сайтом, который специфически связывает антиген.

[0078] Антитела, предусмотренные в данном документе, могут включать, например, моноклональные антитела, рекомбинантно вырабатываемые антитела, моноспецифические антитела, полиспецифические антитела (в том числе биспецифические антитела), человеческие антитела, гуманизированные антитела, мышинные антитела (например, антитела мыши или крысы), химерные антитела, синтетические антитела и тетрамерные антитела, содержащие две молекулы тяжелой цепи и две молекулы легкой цепи. В конкретных вариантах осуществления антитела могут включать без ограничения мономер легкой цепи антитела, мономер тяжелой цепи антитела, димер легкой цепи антитела, димер тяжелой цепи антитела, пару тяжелая цепь антитела–легкая цепь антитела, интратела, гетероконъюгат антитела, однодоменные антитела и моновалентные антитела. В конкретном варианте осуществления антитела могут включать антигенсвязывающие фрагменты или эпитопсвязывающие фрагменты, такие как без ограничения одноцепочечные антитела или одноцепочечные Fv (scFv) (например, в том числе моноспецифические, биспецифические и т. д.), верблужки антитела, аффитела, фрагменты Fab, фрагменты F(ab'), фрагменты F(ab')₂ и дисульфид–связанные Fv (sdFv). В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела относятся к популяциям поликлональных антител.

[0079] Антитела могут быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY), любого класса (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ или IgA₂) или любого подкласса (например, IgG_{2a} или IgG_{2b}) молекулы иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела представляют собой антитела IgG или их класс (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃ или IgG₄ человека) или подкласс. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела представляют собой антитела IgG₁ (например, IgG₁ человека) или их подкласс. В определенных вариантах осуществления антитела IgG₁, описанные в данном документе, содержат одну или несколько аминокислотных замен и/или делеций в константной области. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела представляют собой антитела IgG₄ (например, IgG₄ человека) или их подкласс. В определенных вариантах осуществления антитела IgG₄, описанные в данном документе, содержат одну или несколько аминокислотных замен и/или делеций в константной области.

[0080] Используемый в данном документе термин "антиген" представляет собой фрагмент или молекулу, которая содержит эпитоп, с которым антитело может

специфически связываться. Как таковой, антиген также специфически связывается антителом.

[0081] Используемый в данном документе термин "эпитоп" является термином из уровня техники и относится к локализованной области антигена, с которой антитело может специфически связываться. Эпитоп может представлять собой линейный эпитоп или конформационный, нелинейный или прерывистый эпитоп. В случае полипептидного антигена, например, эпитоп может представлять собой смежные аминокислоты полипептида ("линейный" эпитоп), или эпитоп может включать аминокислоты из двух или больше несмежных областей полипептида ("конформационный", "нелинейный" или "прерывистый" эпитоп). Специалисту в данной области техники будет понятно, что в целом линейный эпитоп может зависеть или не зависеть от вторичной, третичной или четвертичной структуры.

[0082] Используемый в данном документе термин "моноклональное антитело" является хорошо известным термином, который относится к антителу, полученному из популяции гомогенных или фактически гомогенных антител. Термин "моноклональное" не ограничен каким-либо конкретным способом получения антитела. Как правило, популяция моноклональных антител может быть получена посредством клеток, популяции клеток или клеточной линии. В конкретных вариантах осуществления "моноклональное антитело", как используется в данном документе, представляет собой антитело, продуцируемое одной клеткой или клеточной линией, где антитело иммуноспецифически связывается с эпитопом CD47, как определено, например, с помощью ELISA или другого антигенсвязывающего или конкурентного анализа связывания, известного из уровня техники или в приведенных в данном документе примерах. В конкретных вариантах осуществления моноклональное антитело может представлять собой химерное антитело или гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело представляет собой моновалентное антитело или поливалентное (например, двухвалентное) антитело.

[0083] Используемый в данном документе термин "неприродная аминокислота" относится к аминокислоте, которая не является протеиногенной аминокислотой, или ее посттрансляционно модифицированному варианту. В частности, термин относится к аминокислоте, которая не является одной из 20 традиционных аминокислот, или пирролизину, или селеноцистеину, или их посттрансляционно модифицированным вариантам.

[0084] Используемый в данном документе термин "поликлональные антитела" относится к популяции антител, которая включает множество различных антител, которые иммуноспецифически связываются с одинаковыми и/или с различными эпитопами в антигене или антигенах.

[0085] Используемые в данном документе термины "вариабельная область" или "вариабельный домен" относятся к части антитела, как правило, части легкой или тяжелой цепи антитела, обычно составляющей приблизительно от 110 до 120 аминоконцевых

аминокислот в зрелой тяжелой цепи и приблизительно 90–100 аминоконцевых аминокислот в зрелой легкой цепи. Вариабельные области содержат определяющие комплементарность области (CDR), фланкированные каркасными областями (FR). Как правило, пространственная ориентация CDR и FR является следующей в направлении от N–конца к С–концу: FR1–CDR1–FR2–CDR2–FR3–CDR3–FR4. Не желая быть связанными каким–либо конкретным механизмом или теорией, полагают, что CDR легких и тяжелых цепей, прежде всего, ответственны за взаимодействие антитела с антигеном и за специфичность антитела к эпитопу. В конкретном варианте осуществления нумерация аминокислотных положений антител, описанных в данном документе, соответствует индексу EU согласно Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, публикация NIH № 91–3242. В определенных вариантах осуществления вариабельная область представляет собой вариабельную область человека. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область включает CDR мышинных (например, мыши или крысы) и каркасные области человека (FR). В конкретных вариантах осуществления вариабельная область представляет собой вариабельную область примата (например, человека или нечеловекоподобного примата). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область содержит CDR мышинных (например, мыши или крысы) и каркасные области (FR) (например, человека или нечеловекоподобного примата). Как неограничивающий пример, описанную в данном документе вариабельную область получают путем объединения двух или больше фрагментов последовательностей человека в составную последовательность человека.

[0086] В определенных аспектах CDR антитела могут быть определены в соответствии с (i) системой согласно Kabat (Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382–391 и Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, публикация NIH № 91–3242); или (ii) схемой нумерации согласно Chothia и в данном документе будут называться "CDR согласно Chothia" (см., например, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol., 196:901–917; Al–Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273:927–948; Chothia et al., 1992, J. Mol. Biol., 227:799–817; Tramontano A et al., 1990, J. Mol. Biol. 215(1):175–82 и патент США № 7709226); или (iii) системой нумерации ImMunoGeneTics (IMGT), например, как описано в Lefranc, M.–P., 1999, The Immunologist, 7:132–136 и Lefranc, M.–P. et al., 1999, Nucleic Acids Res., 27:209–212 ("IMGT CDRs"); или (iv) MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732–745. См. также, например, Martin, A., "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains" в Antibody Engineering, Kontermann and Dübel, eds., Chapter 31, pp. 422–439, Springer–Verlag, Berlin (2001).

[0087] Что касается системы нумерации Kabat, то CDR в молекуле тяжелой цепи антитела обычно присутствуют в аминокислотных положениях от 31 до 35, которые необязательно могут включать одну или две дополнительные аминокислоты, следующие за 35 (упоминается в схеме нумерации Kabat как 35A и 35B) (CDR1), аминокислотных

положениях от 50 до 65 (CDR2) и аминокислотных положениях от 95 до 102 (CDR3). При использовании системы нумерации согласно Kabat, CDR в молекуле легкой цепи антитела обычно присутствуют в аминокислотных положениях от 24 до 34 (CDR1), в аминокислотных положениях от 50 до 56 (CDR2) и в аминокислотных положениях от 89 до 97 (CDR3). Как хорошо известно специалистам в данной области техники, при использовании системы нумерации согласно Kabat действительная линейная аминокислотная последовательность вариабельного домена антитела может содержать меньшее или дополнительное количество аминокислот ввиду укорочения или удлинения FR и/или CDR, и как таковой, номер аминокислоты согласно Kabat не обязательно совпадает с ее линейным аминокислотным номером.

[0088] Антитела, предусмотренные в данном документе, могут быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY), любого класса (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ или IgA₂) или любого подкласса (например, IgG_{2a} или IgG_{2b} или их смесь) молекулы иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела представляют собой антитела IgG (например, IgG человека) или их класс (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃ или IgG₄ человека) или подкласс.

[0089] В конкретных аспектах настоящее изобретение относится к антителу, содержащему легкую цепь и тяжелую цепь антитела, например отдельную легкую цепь и тяжелую цепь. Что касается легкой цепи, то в конкретном варианте осуществления легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой каппа (κ) легкую цепь. В другом конкретном варианте осуществления легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой лямбда (λ) легкую цепь. В другом варианте осуществления легкая цепь представляет собой смешанную последовательность, например, вариабельная часть легкой цепи содержит каппа-последовательности легкой цепи, и константная область легкой цепи содержит лямбда-последовательности легкой цепи или наоборот. В определенных вариантах осуществления легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой легкую цепь каппа человека или легкую цепь лямбда человека. Неограничивающие примеры последовательностей человеческой константной области были описаны в данной области, например, см. патент США № 5693780 и Kabat. et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, публикация NIH № 91-3242.

[0090] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD47, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности с определенным процентом идентичности относительно исходного антитела.

[0091] Определение процента идентичности между двумя последовательностями (например, аминокислотными последовательностями или последовательностями нуклеиновых кислот) может быть выполнено с использованием математического алгоритма. Неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения двух последовательностей, является алгоритм Karlin and Altschul, 1990, Proc.

Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264-2268, модифицированный согласно Karlin and Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5877. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST в Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403. Поиски нуклеотидов согласно BLAST можно проводить с набором параметров программы NBLAST для нуклеотидов, установленных, например, для веса выравнивания=100, длины слова=12 для нахождения нуклеотидных последовательностей, гомологичных молекулам нуклеиновой кислоты, описанным в данном документе. Поиски белков согласно BLAST можно проводить с набором параметров программы XBLAST, установленных, например, для балла 50, длины слова=3 для нахождения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекуле белка, описанной в данном документе. Для получения выравниваний с гэпами с целью сравнения можно использовать BLAST с гэпами, описанный в Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402. Как альтернатива, PSI-BLAST можно использовать для проведения итеративного поиска, который выявляет дальние связи между молекулами (Id.). При использовании программ BLAST, BLAST с гэпами и PSI-Blast можно использовать параметры по умолчанию из соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST) (см., например, Национальный центр биотехнологической информации (NCBI) на веб-сайте ncbi.nlm.nih.gov). Другим предпочтительным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, является алгоритм Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17. Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью пакета программного обеспечения для выравнивания последовательностей GCG. При использовании программы ALIGN для сравнения аминокислотных последовательностей можно использовать таблицу весов замен остатков PAM120, штраф за продолжение гэпа 12 и штраф за открытие гэпа 4.

[0092] Процент идентичности двух последовательностей можно определить с применением методик, аналогичных описанным выше, которые допускают введение гэпов или не допускают введения гэпов. При расчете процентной идентичности, как правило, подсчитывают только точные совпадения.

[0093] Антитела к CD47, описанные в данном документе, также включают моноклональные антитела, которые специфически связывают CD47, где антитело не стимулирует (например, не индуцирует или не увеличивает) или не вызывает значительный уровень агглютинации, например гемагглютинации эритроцитов ("гемагглютинация эритроцитов").

[0094] Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением могут включать антитело по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

[0095] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG. В некоторых вариантах осуществления константная область антитела представляет собой изотип IgG1 человека, характеризующийся аминокислотной последовательностью:

(SEQ ID NO: 1) ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS
WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHNKPS
NTKVDKKVEPEYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE
LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTPPV LDSDGSFFLY
SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

[0096] В некоторых вариантах осуществления константную область IgG1 человека модифицируют в аминокислоте Asn297 (в рамке, нумерация согласно Kabat) для предотвращения гликозилирования антитела, например Asn297Ala (N297A). В некоторых вариантах осуществления константную область антитела модифицируют в аминокислоте Leu235 (нумерация согласно Kabat) для изменения взаимодействий с Fc-рецептором, например Leu235Glu (L235E) или Leu235Ala (L235A). В некоторых вариантах осуществления константную область антитела модифицируют в аминокислоте Leu234 (нумерация согласно Kabat) для изменения взаимодействий с Fc-рецептором, например Leu234Ala (L234A). В некоторых вариантах осуществления константную область антитела изменяют как в аминокислоте 234, так и в 235, например, Leu234Ala и Leu235Ala (L234A/L235A) (индекс EU согласно Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest).

[0097] В некоторых вариантах осуществления константная область антитела представляет собой изотип IgG2 человека, характеризующийся аминокислотной последовательностью:

SEQ ID NO: 2) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS
WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS
NTKVDKTVR KCCVECPCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC
VVVDVSHEDPKVSNKGLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN
QVSLTCLVKG FYPSDISVEW ESNQGPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSKLT
VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

[0098] В некоторых вариантах осуществления константную область IgG2 человека модифицируют в аминокислоте Asn297 (в рамке, нумерация согласно Kabat) для предотвращения гликозилирования антитела, например Asn297Ala (N297A).

[0099] В некоторых вариантах осуществления константная область антитела представляет собой изотип IgG3 человека, характеризующийся аминокислотной последовательностью:

(SEQ ID NO: 3) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS
WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHNKPS
NTKVDKRVEL KTPLGDTTHT CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP EPKSCDTPPP
CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT
CVVVDVSHED CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK
NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPMLDS DGSFFLYSKL
TVDKSRWQQG

[00100] В некоторых вариантах осуществления константную область IgG3 человека модифицируют в аминокислоте Asn297 (в рамке, нумерация согласно Kabat) для предотвращения гликозилирования антитела, например Asn297Ala (N297A). В некоторых вариантах осуществления константную область IgG3 человека модифицируют в аминокислоте 435 для продления периода полужизни, например, Arg435H представляет собой (R435H) (индекс EU согласно Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest).

[00101] В некоторых вариантах осуществления константная область антитела представляет собой изотип IgG4 человека, характеризующийся аминокислотной последовательностью:

(SEQ ID NO: 4) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS
WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS
NTKVDKRVES CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK
NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL
TVDKSRWQEG NVFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSLGK

[00102] В некоторых вариантах осуществления константную область IgG4 человека модифицируют внутри шарнирной области для предотвращения или уменьшения обмена нитей, например Ser228Pro (S228P). В других вариантах осуществления константную область IgG4 человека модифицируют в аминокислоте 235 для изменения взаимодействий с Fc-рецептором, например Leu235Glu (L235E). В некоторых вариантах осуществления константную область IgG4 человека модифицируют внутри шарнира и аминокислоты 235, например Ser228Pro и Leu235Glu (S228P/L235E). В некоторых вариантах осуществления константную область IgG4 человека модифицируют в аминокислоте Asn297 (нумерация согласно Kabat) для предотвращения гликозилирования антитела, например Asn297Ala (N297A). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения константную область IgG4 человека модифицируют в аминокислотных положениях Ser228, Leu235 и Asn297 (например, S228P/L235E/N297A). (Индекс EU согласно Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest). В других вариантах осуществления настоящего изобретения антитело относится к подклассу IgG4 человека и характеризуется отсутствием гликозилирования. В этих вариантах осуществления гликозилирование может быть устранено с помощью мутации в положении 297 (нумерация согласно Kabat), например N297A. В других вариантах осуществления гликозилирование может быть устранено с помощью выработки антитела в клетке-хозяине, у которой отсутствует способность к посттрансляционному гликозилированию, например, в бактериальной или дрожжевой системе или модифицированной системе экспрессии клеток млекопитающих.

[00103] В некоторых вариантах осуществления константную область IgG человека модифицируют для усиления связывания FcRn. Примерами мутаций Fc, которые усиливают связывание с FcRn, являются Met252Tyr, Ser254Thr, Thr256Glu (M252Y, S254T, T256E, соответственно) (нумерация согласно Kabat, Dall'Acqua et al. 2006, J. Biol Chem Vol. 281 (33) 23514–23524) или Met428Leu и Asn434Ser (M428L, N434S) (Zalevsky et al.,

2010 Nature Biotech, Vol. 28 (2) 157–159). (Индекс EU согласно Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest).

[00104] В некоторых вариантах осуществления константную область IgG человека модифицируют для изменения антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC), например, модификации аминокислот, описанных в Natsume et al., 2008 Cancer Res, 68(10): 3863–72; Idusogie et al., 2001 J Immunol, 166(4): 2571–5; Moore et al., 2010 mAbs, 2(2): 181–189; Lazar et al., 2006 PNAS, 103(11): 4005–4010, Shields et al., 2001 JBC, 276(9): 6591–6604; Stavenhagen et al., 2007 Cancer Res, 67(18): 8882–8890; Stavenhagen et al., 2008 Advan. Enzyme Regul., 48: 152–164; Alegre et al, 1992 J Immunol, 148: 3461–3468; рассмотренных в Kaneko and Niwa, 2011 Biodrugs, 25(1):1–11.

[00105] В некоторых вариантах осуществления константную область IgG человека модифицируют для индукции гетеродимеризации. Например, наличие аминокислотной модификации в домене CH3 в Thr366, которая при замене более объемной аминокислотой, например Try (T366W), способна преимущественно связываться со вторым доменом CH3, имеющим аминокислотные модификации, с менее объемными аминокислотами в положениях Thr366, Leu368 и Tyr407, например, Ser, Ala и Val, соответственно (T366S/L368A/Y407V). Гетеродимеризация посредством модификаций CH3 может быть дополнительно стабилизирована путем введения дисульфидной связи, например, путем замены Ser354 на Cys (S354C) и Y349 на Cys (Y349C) на противоположных доменах CH3 (рассмотрено в Carter, 2001 Journal of Immunological Methods, 248: 7–15).

[00106] В других вариантах осуществления настоящего изобретения антитело характеризуется отсутствием гликозилирования, однако не модифицировано по аминокислоте Asn297 (нумерация согласно Kabat). В этих вариантах осуществления гликозилирование может быть устранено путем выработки антитела в клетке-хозяине, у которой отсутствует способность к посттрансляционному гликозилированию, например, в бактериальной или дрожжевой системе или модифицированной системе экспрессии клеток млекопитающих.

4.2.2.1 Антитела к CD47 для применения в способах, предусмотренных в данном документе

[00107] В конкретном аспекте для применения в способах, предусмотренных в данном документе, включены антитела, которые специфически связываются с CD47 (например, CD47 человека). Такие антитела к CD47 включают все антитела, раскрытые в публикации заявки на патент США № 2014/0140989, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Такие антитела к CD47 также включают все антитела, раскрытые в публикации международной патентной заявки № WO 2016/109415, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00108] Используемые в данном документе термины "CD47" или "ассоциированный с интегринами белок", или "IAP", или "антиген рака яичника", или

"OA3", или "антиген, связанный с Rh", или "MER6", могут использоваться взаимозаменяемо и относятся к многоспиральному трансмембранному рецептору, принадлежащему к суперсемейству иммуноглобулинов. Аминокислотная последовательность иллюстративного CD47 человека представлена ниже (номер доступа в GenBank Q08722.1 (GI:1171879), включенный в данный документ в посредством ссылки). Сигнальная последовательность (аминокислоты 1–18) подчеркнута.

1 MWPLVAALLL GSACCGSAQL LFNKTKSVEF TFCNDTVVIP CFVTNMEAQN
TTEVYVKWKF

61 KGRDIYTFDG ALNKSTVPTD FSSAKIEVSQ LLKGDASLKM DKSDAVSHTG
NYTCEVTELT

121 REGETHIELK YRVVSWFSPN ENILIVIFPI FAILLFWGQF GIKTLKYRSG
GMDEKTIALL

181 VAGLVITVIV IVGAILFVPG EYSLKNATGL GLIVTSTGIL ILLHYYVFST
AIGLTSFVIA

241 ILVIQVIAYI LAVVGLSLCI AACIPMHGPL LISGLSILAL AQLLGLVYMK
FVASNQKTIQ

301 PPRKAVEEPL NAFKESKGMM NDE (SEQ ID NO: 48)

Для ясности, аминокислотная последовательность иллюстративного CD47 человека, за исключением сигнальной последовательности, представлена ниже.

1 QLLFNKTKSV EFTFCNDTVV IPCFVTNMEA QNTTEVYVKW KFKGRDIYTF
DGALNKSTVP

61 TDFSSAKIEV SQLLKGDASL KMDKSDAVSH TGNYTCEVTE LTREGETHIE
LKYRVVSWFS

121 PNENILIVIF PIFAILLFWG QFGIKTLKYR SGGMDEKTIA LLVAGLVITV
IVIVGAILFV

181 PGEYSLKNAT GLGLIVTSTG ILLHYYVF STAIGLTSFV IAILVIQVIA
YILAVVGLSL

241 CIAACIPMHG PLLISGLSIL ALAQLLGLVY MKFVASNQKT IQPPRKAVEE
PLNAFKESKG

301 MMNDE (SEQ ID NO: 49)

[00109] Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, которые включают одно или несколько моноклональных антител, которые связываются с CD47, или их иммунологически активный фрагмент, где антитело не вызывает значительного уровня гемагглютинации эритроцитов после введения.

[00110] Гемагглютинация является примером гомотипического взаимодействия, где две экспрессирующие CD47 клетки проявляют агрегацию или слипание при обработке двухвалентным, связывающим CD47 объектом. Способность антител по настоящему изобретению связывать CD47 на поверхности клетки и не вызывать явления клеточного слипания не ограничивается эритроцитами. Было обнаружено, что антитела по

настоящему изобретению уникально связывают CD47 способом, который не способствует слипанию CD47–положительных клеточных линий, например клеток Дауди.

[00111] В некоторых случаях антитело для применения в способах, предусмотренных в данном документе, содержит переменную область тяжелой (VH) цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30. Антитело необязательно содержит переменную область легкой (VL) цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47. В некоторых случаях антитело содержит область цепи VH, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30, и область цепи VL, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47. Антитела по настоящему изобретению также включают антитела, содержащие переменную область тяжелой цепи, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или больше идентична последовательности, изложенной в по меньшей мере одной из SEQ ID NO: 5–30, и содержащие переменную область легкой цепи, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или больше идентична последовательности, изложенной в по меньшей мере одной из SEQ ID NO: 31–47. В других аспектах антитело содержит VH–область, предусмотренную в любой из SEQ ID NO: 5, 7, 8, 11, 15–17, 20–22 и 27–30, в сочетании с VL–областью, предусмотренной в любой из SEQ ID NO: 31–39, 42, 43, 44 и 47. В другом варианте осуществления антитело содержит VH–область, предусмотренную в любой из SEQ ID NO: 5, 7, 8, 11, 12, 15–17, 20–22 и 27–30, в сочетании с VL–областью, предусмотренной в любой из SEQ ID NO: 31, 32, 35, 40, 41, 42, 43, 44 и 47. В еще одном аспекте антитело содержит комбинацию цепи VH–области и цепи VL–области, выбранных из комбинаций, перечисленных в таблице 1.

[00112] Таблица 1. Иллюстративные комбинации VH/VL антител к CD47.

Антитело	Переменная область тяжелой цепи (VH)	Переменная область легкой цепи (VL)
2A1	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 31
2A1–xi	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 32
AB2.03	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 33
AB2.04	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 34
AB2.05	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 35
AB2.06	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 36
AB2.07	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 37
AB2.08	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 38

AB2.09	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 39
AB2.13	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 43
AB3.09	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 39
AB6.12	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 42
AB6.13	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 43
AB6.14	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 44
AB6.17	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 47
AB10.13	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 43
AB10.14	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 44
AB11.05	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 35
AB12.05	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 35
AB15.05	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 35
AB16.05	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 35
AB17.05	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 35
AB22.05	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 35
AB23.05	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 35
AB24.05	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 35
AB25.05	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 35

[00113] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD47 или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в способах, предусмотренных в данном документе, содержит область 1, определяющую комплементарность последовательности VH (CDR1), представленную в SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65 или SEQ ID NO: 66, последовательность CDR2 VH, представленную в SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 или SEQ ID NO: 76, последовательность CDR3 VH, представленную в SEQ ID NO: 52 или SEQ ID NO: 77, последовательность CDR1 VL, представленную в SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 67 или SEQ ID NO: 68, последовательность CDR2 VL, представленную в SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70 или SEQ ID NO: 71 и последовательность CDR3 VL,

представленную в SEQ ID NO: 55. Например, антитело или его иммунологически активный фрагмент содержит последовательность CDR1 VH, представленную в SEQ ID NO: 50, последовательность CDR2 VH, представленную в SEQ ID NO: 51, последовательность CDR3 VH, представленную в SEQ ID NO: 52, последовательность CDR1 VL, представленную в SEQ ID NO: 53, последовательность CDR2 VL, представленную в SEQ ID NO: 54, и последовательность CDR3 VL, представленную в SEQ ID NO: 55. В другом примере, антитело или его иммунологически активный фрагмент содержит последовательность CDR1 VH, представленную в SEQ ID NO: 50, последовательность CDR2 VH, представленную в SEQ ID NO: 72, последовательность CDR3 VH, представленную в SEQ ID NO: 52, CDR1 VL, представленную в SEQ ID NO: 53, последовательность CDR2 VL, представленную в SEQ ID NO: 71, и последовательность CDR3 VL, представленную в SEQ ID NO: 55.

[00114] В конкретном аспекте данный документ предусматривает антитело, например моноклональное антитело, которое специфически связывается с CD47 человека, где такое антитело к CD47 представляет собой вариант исходного антитела к CD47, где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной (CF) системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с таковыми у исходного антитела к CD47 в случае экспрессии в CF-системе, и где антитело к CD47 содержит одну или несколько аминокислотных модификаций, например 1–15 аминокислотных модификаций, относительно исходного антитела к CD47. В конкретном аспекте одна или несколько аминокислотных модификаций, например 1–15 аминокислотных модификаций, находятся в пределах тяжелой цепи или VH (например, SEQ ID NO: 6). В конкретном аспекте одна или несколько аминокислотных модификаций, например 1–15 аминокислотных модификаций, находятся в каркасной области VH (например, SEQ ID NO: 6). В определенном аспекте данный документ предусматривает антитело к CD47, которое является вариантом исходного антитела к CD47, содержащего CDR (например, CDR согласно Kabat) исходного антитела к CD47.

[00115] В конкретном аспекте данный документ предусматривает антитело, например моноклональное антитело, которое специфически связывается с CD47 человека, где такое антитело к CD47 представляет собой вариант исходного антитела к CD47, где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной (CF) системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с таковым у исходного антитела к CD47 в случае экспрессии в CF-системе, и где антитело к CD47 содержит одну или несколько аминокислотных модификаций, например 1–15 аминокислотных модификаций, относительно исходного антитела к CD47. В конкретном аспекте одна или несколько аминокислотных модификаций, например 5 или 14 аминокислотных модификаций, находятся в пределах тяжелой цепи или VH (например, SEQ ID NO: 6). В конкретном аспекте одна или несколько аминокислотных модификаций, например, 5, 10, 13 или 14 аминокислотных модификаций, находятся в каркасной области VH (например, SEQ ID NO: 6). В конкретном аспекте одна или несколько

аминокислотных модификаций, например, 5, 13 или 14 аминокислотных модификаций, находятся в каркасной области VH (например, SEQ ID NO: 6). В определенном аспекте данный документ предусматривает антитело к CD47, которое является вариантом исходного антитела к CD47, содержащего CDR (например, CDR согласно Kabat) исходного антитела к CD47. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1 аллотипа Z. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG4, такое как IgG4P или IgG4PE.

[00116] В конкретном аспекте данный документ предусматривает антитело, например моноклональное антитело, которое специфически связывается с CD47 человека, где такое антитело к CD47 представляет собой вариант исходного антитела к CD47, где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной (CF) системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с таковым у исходного антитела к CD47 в случае экспрессии в CF-системе. В конкретных вариантах осуществления исходное антитело к CD47 представляет собой антитело AB6.12 (см., например, публикацию заявки США № US 2014/0140989 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Аминокислотные последовательности вариабельной области тяжелой цепи (VH) и вариабельной области легкой цепи (VL) антитела AB6.12 предусмотрены ниже, где CDR согласно Kabat подчеркнуты. В определенном аспекте антитело к CD47, предусмотренное в данном документе, представляет собой вариант исходного антитела AB6.12 и содержит CDR (например, CDR согласно Kabat) исходного антитела AB6.12, например, SEQ ID NO: 50, 72, 52, 53, 71 и 55. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1 аллотипа Z. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG4, такое как IgG4P или IgG4PE.

[00117] Вариабельная область тяжелой цепи (VH) антитела к CD47 AB6.12 (CDR согласно Kabat 1–3 подчеркнуты, SEQ ID NO: 50, 72 и 52):

QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSCKASGFENIKDY^YLHWVRQAPGQALEWMG^WID
PDQGDTEYAQKFQDRVTITRDRSMSTAYMELSSLRSED^TTAMYYC^NAAAYGSSSY^PPMDY
WGQGT^TTVTV (SEQ ID NO: 6)

[00118] Вариабельная область легкой цепи (VL) антитела к CD47 AB6.12 (CDR согласно Kabat 1–3 подчеркнуты, SEQ ID NO: 53, 71 и 55):

[00119]
NIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCKASQDIHRYLSWFQ^KPGKVPKHLIY^RANRLV^SGV^P
SRFSGSGSGTEFTLTIS^SLQPEDFATYYC^LQYDEFPY^TFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 42)

[00120] В конкретном варианте осуществления антитело к CD47, описанное в данном документе, содержит одну или несколько модификаций аминокислот (например, 1–15 модификаций аминокислот), например, в каркасной области VH исходного антитела, например, исходного антитела, выбранного из антител к CD47, описанных в данном документе.

[00121] В конкретном аспекте данный документ предусматривает антитело, например моноклональное антитело, которое специфически связывается с CD47 человека, где такое антитело к CD47 представляет собой вариант исходного антитела к CD47, где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной (CF) системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с таковым у исходного антитела к CD47 в случае экспрессии в CF-системе, и где антитело к CD47 содержит VH, содержащую следующую последовательность от N-конца

к

С-концу:

X₁QX₂QLVQSGAEVKKX₃GX₄SVKVSCKASGFNIKDY₁LHWVRQAPGQX₅LEWMGWIDP
DQGDTEYAQKX₆QX₇RVTX₈TX₉DX₁₀SX₁₁STAYMELX₁₂SLRSX₁₃DTAX₁₄YYCNAAYGSS
SYPMDYWGQGTTTVTV (SEQ ID NO: 89), где подчеркнутые аминокислотные остатки для X₁–X₁₄ упорядочены от N-конца к С-концу, где X₁ представляет собой M, или в положении X₁ отсутствует какая-либо аминокислота, X₂ представляет собой аминокислоту с гидрофобными боковыми цепями, такую как M или V, X₃ представляет собой T или P, X₄ представляет собой S или A, X₅ представляет собой кислоту, содержащую алифатические боковые цепи, такую как A или G, X₆ представляет собой F или L, X₇ представляет собой D или G, X₈ представляет собой аминокислоту с гидрофобными боковыми цепями, такую как I или M, X₉ представляет собой R или T, X₁₀ представляет собой R или T, X₁₁ представляет собой M или T, X₁₂ представляет собой S или R, X₁₃ представляет собой отрицательно заряженную аминокислоту, такую как E или D, и X₁₄ представляет собой аминокислоту с гидрофобными боковыми цепями, такую как M или V.

[00122] В конкретных аспектах антитело к CD47, описанное в данном документе, содержит VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 89, где аминокислота в положении X₁ представляет собой любую аминокислоту, такую как M, X₂ не является M, X₃ не является T, X₄ не является S, X₅ не является A, X₆ не является F, X₇ не является D, X₈ не является I, X₉ не является R, X₁₀ не является R, X₁₁ не является M, X₁₂ не является S, X₁₃ не является E и/или X₁₄ не является M. В конкретных аспектах любой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, или 14 из X₁–X₁₄ не является этими аминокислотами. В конкретных аспектах аминокислотная последовательность VH не является аминокислотной последовательностью VH антитела AB6.12, например, аминокислотная последовательность VH не является SEQ ID NO: 6.

[00123] В конкретных аспектах антитело к CD47, описанное в данном документе, содержит VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 89, где аминокислота в положении X₇ не является G, X₉ не является A и/или X₁₁ не является S. В конкретных

аспектах любые 1, 2 или 3 из X_7 , X_9 и X_{11} не являются этими аминокислотами. В конкретных аспектах, в случае если аминокислота в положении X_7 представляет собой G, тогда X_8 представляет собой M и/или X_{10} представляет собой T, X_9 не является A и/или X_{11} не является S.

[00124] В конкретных аспектах антитело к CD47, описанное в данном документе, содержит VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 89, где аминокислота в положении X_7 не является G, X_8 не является M, X_9 не является E, X_{10} не является T и/или X_{11} не является T. В конкретных аспектах любые 1, 2, 3 или 4 из X_7 – X_{11} не являются этими аминокислотами. В конкретных аспектах, в случае если аминокислота в положении X_7 представляет собой G, тогда X_8 представляет собой M, X_{10} представляет собой T, X_9 не является E и X_{11} представляет собой T.

[00125] В конкретном аспекте антитело к CD47, описанное в данном документе, содержит VH, содержащую последовательность SEQ ID NO: 89, где VH не содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, или 30, как указано в публикации заявки на патент США № US2014/0140989 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В конкретном аспекте антитело к CD47, описанное в данном документе, содержит VH, содержащую консенсусную последовательность SEQ ID NO: 89, где VH не содержит каркасные области аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, или 30, как указано в публикации заявки на патент США № US2014/0140989 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00126] В конкретных аспектах X_1 представляет собой M, X_2 представляет собой V, X_3 представляет собой P, X_4 представляет собой A, X_5 представляет собой G, X_6 представляет собой L, X_7 представляет собой G, X_8 представляет собой M, X_9 представляет собой T, X_{10} представляет собой T, X_{11} представляет собой T, X_{12} представляет собой R, X_{13} представляет собой D и/или X_{14} представляет собой V. В конкретных вариантах осуществления любой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, или 14 из X_1 – X_{14} представляет собой эти аминокислоты.

[00127] В конкретных аспектах X_1 представляет собой M, X_2 представляет собой M, X_3 представляет собой P, X_4 представляет собой S, X_5 представляет собой A, X_6 представляет собой F, X_7 представляет собой G, X_8 представляет собой I, X_9 представляет собой R, X_{10} представляет собой R, X_{11} представляет собой T, X_{12} представляет собой R, X_{13} представляет собой E и/или X_{14} представляет собой V. В конкретных вариантах осуществления любой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, или 14 из X_1 – X_{14} представляет собой эти аминокислоты.

[00128] В конкретном аспекте антитело к CD47, предусмотренное в данном документе, не является антителом AB6.12. В конкретном аспекте антитело к CD47, предусмотренное в данном документе, не содержит VH (например, SEQ ID NO: 6) и/или VL (например, SEQ ID NO: 42) антитела AB6.12.

[00129] В конкретном аспекте антитело к CD47, предусмотренное в данном документе, содержит одну из следующих аминокислотных последовательностей VH, предусмотренных в таблице 2.

[00130] Таблица 2. Аминокислотная последовательность VH

SEQ ID NO:	Описание	Аминокислотная последовательность VH
89	Консенсусная	<u>X₁</u> <u>Q</u> <u>X₂</u> QLVQSGAEVKK <u>X₃</u> <u>G</u> <u>X₄</u> SVKVSCKASGFNIKDY <u>Y</u> LHWV RQAPGQ <u>X₅</u> LEWMGWIDPDQGDTEYAQK <u>X₆</u> <u>Q</u> <u>X₇</u> RVT <u>X₈</u> <u>T</u> <u>X₉</u> <u>D</u> <u>X₁₀</u> <u>S</u> <u>X₁₁</u> STAYMEL <u>X₁₂</u> SLRS <u>X₁₃</u> DTA <u>X₁₄</u> YYCNAAYGSSSYPM Y W GQGTTTVTV
90	13m	MQVQLVQSGAEVKK <u>P</u> GASVKVSCKASGFNIKDY Y LHWV RQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYAQK <u>L</u> QGRVT <u>M</u> <u>T</u> <u>T</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>A</u> YMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM Y WGQGTTTVTV
91	5m	MQMQLVQSGAEVKK <u>P</u> GSSVKVSCKASGFNIKDY Y LHWV RQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYAQK <u>L</u> QGRVT <u>M</u> <u>T</u> <u>T</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>A</u> YMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM Y WGQGTTTVTV

[00131] В конкретном аспекте данный документ предусматривает антитело, например моноклональное антитело, которое специфически связывается с CD47 человека, где такое антитело к CD47 представляет собой вариант исходного антитела к CD47, где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной (CF) системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с таковым у исходного антитела к CD47 в случае экспрессии в CF-системе, и где антитело к CD47 содержит VH, содержащую SEQ ID NO: 90. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1 аллотипа Z. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG4, такое как IgG4P или IgG4PE.

[00132] В конкретном аспекте данный документ предусматривает антитело, например моноклональное антитело, которое специфически связывается с CD47 человека, где такое антитело к CD47 представляет собой вариант исходного антитела к CD47, где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной (CF) системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с таковым у исходного антитела к CD47 в случае экспрессии в CF-системе, и где антитело к CD47 содержит VH, содержащую SEQ ID NO: 91. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG1 аллотипа Z. В определенных аспектах такое антитело к CD47 представляет собой антитело изотипа IgG4, такое как IgG4P или IgG4PE.

[00133] В конкретном аспекте антитело к CD47 (IgG1–13m), предусмотренное в данном документе, содержит тяжелую цепь IgG1, содержащую аминокислотную последовательность, как изложено ниже:

MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWI
DPDQGDTEYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM
YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)

[00134] В конкретном аспекте антитело к CD47 (IgG1–13mZ), предусмотренное в данном документе, содержит тяжелую цепь IgG1 аллотипа Z, содержащую аминокислотную последовательность, как изложено ниже:

MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWI
DPDQGDTEYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM
YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 82)

[00135] В конкретном аспекте антитело к CD47 (IgG1–5m), предусмотренное в данном документе, содержит тяжелую цепь IgG1, содержащую аминокислотную последовательность, как изложено ниже:

MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWI
DPDQGDTEYAQKFQGRVTITRDRSTSTAYMELRSLRSEDVAVYYCNAAYGSSSYPM
WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 83)

[00136] В конкретном аспекте антитело к CD47 (IgG4P–13m), предусмотренное в данном документе, содержит антитело IgG4P, содержащее аминокислотную последовательность, как изложено ниже:

MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWI
DPDQGDTEYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM
YWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVESKYGPPCP

PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 84)

[00137] В конкретном аспекте антитело к CD47 (IgG4P–5m), предусмотренное в данном документе, содержит тяжелую цепь IgG4P, содержащую аминокислотную последовательность, как изложено ниже:

MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYYLHWVRQAPGQALEWMGWI
DPDQGDTEYAQKFQGRVTITRDRSTSTAYMELRSLRSED TAVYYCNAAYGSSSYPM DY
WGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGP PCPP
CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 85)

[00138] В конкретном аспекте антитело к CD47 (IgG4PE–13m), предусмотренное в данном документе, содержит тяжелую цепь IgG4PE, содержащую аминокислотную последовательность, как изложено ниже:

MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYYLHWVRQAPGQGLEWMGWI
DPDQGDTEYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM D
YWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGP PCP
PCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 86)

[00139] В конкретном аспекте антитело к CD47 (IgG4PE–5m), предусмотренное в данном документе, содержит тяжелую цепь IgG4PE, содержащую аминокислотную последовательность, как изложено ниже:

MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYYLHWVRQAPGQALEWMGWI
DPDQGDTEYAQKFQGRVTITRDRSTSTAYMELRSLRSED TAVYYCNAAYGSSSYPM DY
WGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGP PCPP
CPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 87)

[00140] В конкретном аспекте данный документ предусматривает антитело, например моноклональное антитело, которое специфически связывается с CD47 человека, где такое антитело к CD47 представляет собой вариант исходного антитела к CD47, где

антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной (CF) системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с таковым у исходного антитела к CD47 в случае экспрессии в CF-системе, и где антитело к CD47 содержит легкую цепь, содержащую константную область легкой цепи каппа или лямбда (например, константную область легкой цепи каппа или лямбда человека), например SEQ ID NO: 88.

[00141] В конкретном аспекте данный документ предусматривает антитело, например моноклональное антитело, которое специфически связывается с CD47 человека, где такое антитело к CD47 представляет собой вариант исходного антитела к CD47, где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной (CF) системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с таковым у исходного антитела к CD47 в случае экспрессии в CF-системе, и где антитело к CD47 содержит (i) VH, описанную в данном документе (например, в SEQ ID NO: 89, 90 или 91), или тяжелую цепь, описанную в данном документе (например, любую из SEQ ID NO: 81–87), и (ii) легкую цепь, содержащую константную область легкой цепи каппа или лямбда (например, константную область легкой цепи каппа или лямбда человека), например в SEQ ID NO: 88, например, как изложено ниже (легкая цепь антитела к CD47 (Igκ)) или SEQ ID NO: 88 без аминокислоты М на N-конце:

MNIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCKASQDIHRYLSWFQQKPGKVPKHLIYRANR
 LVSGVPSRFGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPS
 VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
 SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 88).

[00142] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 42, где антитело специфически связывается с CD47. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 42, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело содержит CDR (например, CDR VL 1–3), которые идентичны CDR (например, CDR VL 1–3) из SEQ ID NO: 42 (например, SEQ ID NO: 53, 71 и 55).

[00143] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, характеризующуюся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 88, где

антитело специфически связывается с CD47. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит домен легкой цепи, характеризующийся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 88, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело содержит CDR (например, CDR VL 1–3), которые идентичны CDR (например, CDR VL 1–3) из SEQ ID NO: 88 (например, SEQ ID NO: 53, 71 и 55).

[00144] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с исходным антителом в случае получения в CF-системе экспрессии. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело содержит CDR (например, CDR VL 1–3), которые идентичны CDR (например, CDR VL 1–3) из SEQ ID NO: 6 (например, SEQ ID NO: 50, 72 и 52).

[00145] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, характеризующуюся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 78, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с исходным антителом в случае получения в CF-системе экспрессии. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит домен тяжелой цепи, характеризующийся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 78, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело содержит CDR (например, CDR VL 1–3), которые идентичны CDR (например, CDR VL 1–3) из SEQ ID NO: 78 (например, SEQ ID NO: 53, 71 и 55).

[00146] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, характеризующуюся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 79, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с исходным антителом в случае получения в CF-системе экспрессии. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит домен тяжелой цепи, характеризующийся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 79, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело содержит CDR (например, CDR VL 1–3), которые идентичны CDR (например, CDR VL 1–3) из SEQ ID NO: 79 (например, SEQ ID NO: 53, 71 и 55).

[00147] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, характеризующуюся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 80, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело к CD47 в случае получения с применением бесклеточной системы экспрессии характеризуется более высоким титром или выходом экспрессии антитела по сравнению с исходным антителом в случае получения в CF-системе экспрессии. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит домен тяжелой цепи, характеризующийся по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 80, где антитело специфически связывается с CD47, и где антитело содержит CDR (например, CDR VL 1–3), которые идентичны CDR (например, CDR VL 1–3) из SEQ ID NO: 80 (например, SEQ ID NO: 53, 71 и 55).

[00148] В таблице 3 приведена таблица аминокислотных последовательностей антитела к CD47, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит любую последовательность вариабельной области легкой цепи из таблицы 3 и любую последовательность вариабельной области тяжелой цепи из таблицы 3.

Таблица 3. Аминокислотные последовательности антитела к CD47.

SEQ ID	Описание	Аминокислотная последовательность
--------	----------	-----------------------------------

NO:		
1	IgG1	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSGDSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
2	IgG2	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP KVS NKGLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDISVEW ESNGQPENNY KTPPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
3	IgG3	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRVEL KTPLGDTTHT CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP EPKSCDTPPP CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG
4	IgG4	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
5	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	EVQLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYHLHWVKQR PEQGLEWIGW IDPDNGDTEF APKFQGKATM TADTSSNTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTSVTV
6	Вариабельная область тяжелой цепи антитела к CD47 AB6.12	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYHLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDQGDTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTI
7	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYHLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY

		MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
8	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	EVQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
9	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQGRVTM TADTSSNTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
10	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQGRVTM TEDTSTDYAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
11	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDQGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
12	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDYGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
13	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDSGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
14	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNADTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
15	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNTDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
16	Вариабельная область тяжелой цепи	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA

	гуманизированного антитела к CD47	PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV*
17	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFT YYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV
18	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFT YYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV
19	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYNFT YYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV
20	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTIT YYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV
21	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFK YYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV
22	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFT DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV
23	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFT DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV
24	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTIT DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSYPMDYW GQGTTVTV

25	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
26	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
27	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY LQLSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
28	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLTSED TAVYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
29	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	EVQLVQSGAE VKKPGATVKI SCKVSGFNK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
30	Вариабельная область тяжелой цепи гуманизированного антитела к CD47	EVQLVQSGAE VKKPGATVKI SCKVSGFNK DYYLHWVQQA PGKGLEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
31	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	DIKMTQSPSS LYASLGERVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKSPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGQD YSLTISSLEY EDMGIYYCLQ YDEFPYTFGG GTKLEMK
32	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	DIKMTQSPSS LYASLGERVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKSPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGQD YSLTISSLEY EDMGIYYCLQ YDEFPYTFGG GTKLEIK
33	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKASQDIH RYLSWYQQKP GKAPKLLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK

34	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKAPKSLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
35	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
36	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKAPKRLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
37	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIH RYLAWYQQKP GKVPKLLIYR ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ YDEFPYTFGQ GTKVEIK
38	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQDIH RYLAWYQQKP GQAPRLLIYR ANRRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISLLEP EDFAVYYCLQ YDEFPYTGFQ GTRLEIK
39	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	DIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
40	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
41	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
42	Вариабельная область легкой цепи антитела к CD47 AB6.12	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
43	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
44	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE

	к CD47	FTLTISLQ EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
45	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKLLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISLQ EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
46	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKLLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISLQ EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
47	Вариабельная область легкой цепи гуманизированного антитела к CD47	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKLLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISLQ EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
48	ИЛЛЮСТРАТИВНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ CD47 ЧЕЛОВЕКА	MWPLVAALLL GSACCGSAQL LFNKTKSVEF TFCNDTVVIP CFVTNMEAQN TTEVYVKWKF KGRDIYTFDG ALNKSTVPTD FSSAKIEVSQ LLKGDASLKM DKSDAVSHTG NYTCEVTELT REGETIIEELK YRVVSWFSPN ENILIVIFPI FAILLFWGQF GIKTLKYRSG GMDEKTIALL VAGLVITVIV IVGAILFVPG EYSLKNATGL GLIVTSTGIL ILLHYYVFST AIGLTSFVIA ILVIQVIAYI LAVVGLSLCI AACIPMHGPL LISGLSILAL AQLLGLVYMK FVASNQKTIQ PPRKAVEEPL NAFKESKGMM NDE
49	ИЛЛЮСТРАТИВНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ CD47 ЧЕЛОВЕКА БЕЗ СИГНАЛЬНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ	QLLFNKTKSV EFTFCNDTVV IPCFVTNMEA QNTTEVYVKW KFKGRDIYTF DGALNKSTVP TDFSSAKIEV SLLKGDASL KMDKSDAVSH TGNYTCEVTE LTREGETIIE LKYRVVSWFS PNENILIVIF PIFAILLFWG QFGIKTLKYR SGGMDEKTIA LLVAGLVITV IVIVGAILFV PGEYSLKNAT GLGLIVTSTG ILILLHYYVF STAIGLTSFV IAILVIQVIA YILAVVGLSL CIAACIPMHG PLLISGLSIL ALAQLLGLVY MKFVASNQKT IQPPRKAVEE PLNAFKESKG MMNDE
50	Аминокислотная последовательность CDR1 VH	GFNIKDYLLH
51	Аминокислотная последовательность CDR2 VH	WIDPDNGDTE
52	Аминокислотная последовательность CDR3 VH	NAAYGSSSYPM DY
53	Аминокислотная последовательность CDR1 VL	KASQDIHRYLS

54	Аминокислотная последовательность VL	CDR2	RANRLVD
55	Аминокислотная последовательность VL	CDR3	LQYDEFPYT
56	Эпитоп CD47		KGRD
57	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GYTFTYYYLH
58	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GFTFTYYYLH
59	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GYNFTYYYLH
60	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GYTITYYYLH
61	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GYTFKYYLH
62	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GYTFTDYLLH
63	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GFTFTDYLLH
64	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GFTITDYLLH
65	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GYTFKDYYLH
66	Аминокислотная последовательность VH	CDR1	GFTFKDYLLH
67	Аминокислотная последовательность VL	CDR1	RASQDIHRYLA
68	Аминокислотная последовательность VL	CDR1	RARQGIHRYLS
69	Аминокислотная последовательность VL	CDR2	RANRLQS
70	Аминокислотная последовательность VL	CDR2	RANRRAT
71	Аминокислотная последовательность	CDR2	RANRLVS

	VL	
72	Аминокислотная последовательность VH	CDR2 WIDPDQGDTE
73	Аминокислотная последовательность VH	CDR2 WIDPDYGDTE
74	Аминокислотная последовательность VH	CDR2 WIDPDSGDTE
75	Аминокислотная последовательность VH	CDR2 WIDPDNADTE
76	Аминокислотная последовательность VH	CDR2 WIDPDNTDTE
77	Аминокислотная последовательность VH	CDR3 NAAYGSSPYPM DY
78	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG1	MQMQLVQSGA EVKKTGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQDRVT ITRDRSMSTA YMELSSLRSE DTAMYYCNAA YGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVT V SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV V TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP VLDS DGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
79	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG4P	MQMQLVQSGA EVKKTGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQDRVT ITRDRSMSTA YMELSSLRSE DTAMYYCNAA YGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVT V SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV V TVPSSSLGTK

		TYTCNVDPKHP SNTKVDKRV SKYGPPCPPC PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
80	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG4PE (содержащая замены S228P и L235E)	MQMQLVQSGA EVKKTGSSVK VSCASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQDRVT ITRDRSMSTA YMELSSLRSE DTAMYCNA YGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLG TK TYTCNVDPKHP SNTKVDKRV SKYGPPCPPC PAPEFEGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
81	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG1-13m	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTA VYYCNA YGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
82	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG1-13mZ	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTA VYYCNA YGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG

		VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDSGDSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
83	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG1–5m	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAVYYCNA A YGSSSYPM DY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDSGDSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
84	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG4P–13m	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAVYYCNA A YGSSSYPM DY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLG TK TYTCNV DHKP SNTKV D KRVE SKYGPPC PPC PAPEFLGGPS VFLFPPK PKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSI EKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQ PEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
85	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG4P–5m	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAVYYCNA A YGSSSYPM DY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLG TK TYTCNV DHKP SNTKV D KRVE SKYGPPC PPC

		PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
86	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG4PE–13m	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAVYYCNAAYGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLG TK TYTCNV DHPK SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFEGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
87	Тяжелая цепь антитела к CD47 IgG4PE–5m	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAVYYCNAAYGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLG TK TYTCNV DHPK SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFEGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
88	Легкая цепь (Ig каппа)	MNIQMTQSPS AMSASV GDRV TITCKASQDI HRYLSWFQK PGKVPKHLIY RANRLVSGVP SRFSGSGSGT EFTLTSSLQ PEDFATYYCL QYDEFPYTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
89	Консенсусная последовательность вариабельной области тяжелой цепи антитела к	X_1 QX ₂ QLVQSGAEVKKX ₃ GX ₄ SVKVSCKASGF NIKDYYLHWVRQAPGQX ₅ LEWMGWIDPDQG DTEYAQKX ₆ QX ₇ RVTX ₈ TX ₉ DX ₁₀ SX ₁₁ STAYME LX ₁₂ SLRSX ₁₃ DTAX ₁₄ YYCNAAYGSSSYPM DY

	CD47	WGQGTTVTV
90	VH – 13m антитела к CD47	VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASGFNIKD YYLHWVRQAP GQGLEWMGWI DPDQGDTEYA QKLQGRVTMT TDTSTSTAYM ELRSLRSDDT AVYYCNAAYG SSSYPMDYWG QGTTTVTV
91	VH – 5m антитела к CD47	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTA VYYCNAAYGSSSYPMDY WGQGTTVTV

[00149] В некоторых вариантах осуществления антитела к CD47, описанные в данном документе, применяют в сочетании с одним или несколькими дополнительными средствами или комбинацией дополнительных средств. Подходящие дополнительные средства включают современные фармацевтические и/или хирургические виды терапии для предполагаемого применения, например такого как рак. Например, антитела к CD47 можно применять в сочетании с одним или несколькими дополнительными химиотерапевтическими или противоопухолевыми средствами. Как альтернатива, дополнительное химиотерапевтическое средство представляет собой лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой средство, индуцирующее гибель клеток. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство индуцирует потерю фосфолипидной асимметрии в пределах плазматической мембраны, например, вызывает воздействие фосфатидилсерина (PS) на клеточную поверхность. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство вызывает стресс эндоплазматического ретикулума (ER). В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой ингибитор протеасом. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство индуцирует транслокацию белков ER на клеточную поверхность. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство индуцирует транслокацию и воздействие кальретикулина на клеточную поверхность.

[00150] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD47 и дополнительное средство составляют в одну терапевтическую композицию, и при этом антитело к CD47 и дополнительное средство вводят одновременно. Как альтернатива, антитело к CD47 и дополнительное средство отделены друг от друга, например, каждое из них составлено в отдельную терапевтическую композицию, и при этом антитело к CD47 и дополнительное средство вводят одновременно или антитело к CD47 и дополнительное средство вводят в разное время в течение режима лечения. Например, антитело к CD47 вводят перед введением дополнительного средства, антитело к CD47 вводят после введения дополнительного средства или антитело к CD47 и дополнительное средство вводят поочередно. Как описано в данном документе, антитело к CD47 и дополнительное средство вводят в однократных или многократных дозах.

[00151] В конкретных аспектах антитела к CD47, предусмотренные в данном документе, содержат один или несколько неприродных аминокислотных остатков в сайт-специфических положениях. См., например, публикацию заявки на патент США № 2014/0046030 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В конкретных аспектах неприродные аминокислотные остатки в сайт-специфических положениях имеют преимущества в отношении выхода выработки антител, растворимости, аффинности связывания и/или активности. Описаны неограничивающие примеры неприродных аминокислот, см., например, публикацию заявки США № US 2014/0066598 A1.

[00152] В конкретном аспекте в данном документе предусмотрены антитела к CD47, конъюгированные с конъюгирующим фрагментом или средством, таким как метка или токсин. Конъюгирующий фрагмент может представлять собой любой конъюгирующий фрагмент, который считается применимым для специалиста в данной области техники. Например, конъюгирующий фрагмент может представлять собой полимер, такой как полиэтиленгликоль, который может улучшать стабильность антитела *in vitro* или *in vivo*. Конъюгирующий фрагмент может характеризоваться терапевтической активностью, в результате чего образуется конъюгат антитело-лекарственное средство. Конъюгирующий фрагмент может представлять собой молекулярную нагрузку, которая вредна для целевых клеток. Конъюгирующий фрагмент может представлять собой метку, применимую для обнаружения или диагностики. В определенных аспектах конъюгирующий фрагмент связан с антителом посредством прямой ковалентной связи. В определенных аспектах конъюгирующий фрагмент связан с антителом посредством линкера. В конкретных аспектах конъюгирующий фрагмент или линкер присоединены посредством одной из неприродных аминокислот антитела к CD47. Типичные конъюгирующие фрагменты и линкеры описаны, например, в публикации заявки США № US2014/0046030 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00153] Антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, которые иммуноспецифически связываются с CD47 (например, ECD CD47 человека), могут быть получены любым способом, известным из уровня техники.

[00154] Описанные в данном документе антитела могут, например, включать химерные антитела. Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой разные части антитела получены из разных молекул иммуноглобулина. Например, химерное антитело может содержать переменную область моноклонального антитела мыши или крысы, слитую с константной областью антитела человека. Способы получения химерных антител известны из уровня техники. См., например, Morrison, 1985, Science 229:1202; Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214; Gillies et al., 1989, J. Immunol. Methods 125:191–202 и патенты США №№ 5807715, 4816567, 4816397 и 6331415.

[00155] Антитела или антигенсвязывающие фрагменты, полученные с применением методик, подобных тем, которые описаны в данном документе, могут быть

выделены с применением стандартных, хорошо известных методик. Например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут быть подходящим образом отделены, например, от культуральной среды, асцитной жидкости, сыворотки, лизата клеток, материала для реакции синтеза или т. п. с помощью обычных процедур очистки иммуноглобулина, таких как, например, белок А-сефароза, гидроксилапатитная хроматография, гель-электрофорез, диализ или аффинная хроматография. Как используется в данном документе, "выделенное" или "очищенное" антитело фактически не содержит клеточного материала или других белков из источника клеток или ткани, из которых получено антитело, или фактически не содержит химических предшественников или других химических веществ в случае химического синтеза или из компонентов системы экспрессии CF, используемой для получения антител.

[00156] Описанные в данном документе антитела включают фрагменты антител, которые распознают специфические антигены CD47 и могут быть получены посредством любой методики, известной специалистам в данной области техники. Например, описанные в данном документе фрагменты Fab и $F(ab')_2$ могут быть получены путем протеолитического расщепления молекул иммуноглобулина с использованием ферментов, таких как папаин (для получения фрагментов Fab) или пепсин (для получения фрагментов $F(ab')_2$). Фрагмент Fab соответствует одному из двух идентичных плеч молекулы антитела и содержит полную легкую цепь в паре с доменами VH и CH1 тяжелой цепи. Фрагмент $F(ab')_2$ содержит два антигенсвязывающих плеча молекулы антитела, связанных дисульфидными связями в шарнирной области. Как альтернатива, описанные в данном документе фрагменты антител могут быть обычным образом получены с помощью хорошо известных методик рекомбинантной экспрессии. См., например, публикацию согласно PCT № WO 92/22324; Mullinax et al., 1992, BioTechniques 12(6):864–869; Sawai et al., 1995, AJRI 34:26–34 и Better et al., 1988, Science 240:1041–1043.

[00157] Описанные в данном документе антитела могут, например, включать гуманизированные антитела, например деиммунизированные или составные антитела человека. Гуманизированное антитело может содержать последовательности константной области человека. В определенных вариантах осуществления гуманизированное антитело может быть выбрано из любого класса иммуноглобулинов, в том числе IgM, IgG, IgD, IgA и IgE, и любого изотипа, в том числе IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄. В определенных вариантах осуществления гуманизированное антитело может содержать константные последовательности легкой цепи каппа или лямбда.

[00158] Гуманизированные антитела могут быть получены с применением различных способов, известных из уровня техники, в том числе без ограничения осуществлением CDR-прививки (европейский патент EP № 239400; международная публикация № WO 91/09967 и патенты США №№ 5225539, 5530101 и 5585089), гиперхимеризации или изменения поверхности (европейские патенты №№ EP 592106 и EP 519596; Padlan, 1991, Molecular Immunology 28(4/5):489–498; Studnicka et al., 1994, Protein Engineering 7(6):805–814 и Roguska et al., 1994, PNAS 91:969–973), перетасовки цепей

(патент США № 5565332), а также методик, описанных например, в патенте США № 6407213; пат. США № 5766886, WO 9317105, Tan et al., J. Immunol. 169:1119 25 (2002), Caldas et al., Protein Eng. 13(5):353–60 (2000), Morea et al., Methods 20(3):267 79 (2000), Baca et al., J. Biol. Chem. 272(16):10678–84 (1997), Roguska et al., Protein Eng. 9(10):895 904 (1996), Couto et al., Cancer Res. 55 (23 Supp):5973s– 5977s (1995), Couto et al., Cancer Res. 55(8):1717–22 (1995), Sandhu JS, Gene 150(2):409–10 (1994) и Pedersen et al., J. Mol. Biol. 235(3):959–73 (1994). См. также публикацию пат. США № 2005/0042664 A1 (24 февраля 2005 года), каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00159] Описанные в данном документе антитела могут, например, представлять собой полиспецифические, например биспецифические антитела. Описаны способы получения полиспецифических (например, биспецифических антител), см., например, патенты США №№ 7951917, 7183076, 8227577, 5837242, 5989830, 5869620, 6132992 и 8586713.

[00160] Однодоменные антитела, например, антитела, лишенные легких цепей, могут быть получены с помощью способов, хорошо известных из уровня техники. См. Riechmann et al., 1999, J. Immunol. 231:25–38; Nuttall et al., 2000, Curr. Pharm. Biotechnol. 1(3):253–263; Muyllderma, 2001, J. Biotechnol. 74(4):277302; патент США № 6005079 и международные публикации №№ WO 94/04678, WO 94/25591 и WO 01/44301.

[00161] Антитела человека могут быть получены с применением любого способа, известного из уровня техники. Например, можно применять хорошо известных трансгенных мышей, которые не способны экспрессировать функциональные эндогенные мышинные иммуноглобулины, но в которых может происходить экспрессия генов иммуноглобулинов человека. Как альтернатива, например, можно применять вышеописанные методики фагового дисплея. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитела человека могут, например, быть получены с применением гибридом мышь–человек. Например, лимфоциты периферической крови человека, трансформированные вирусом Эпштейна–Барра (EBV), можно подвергать слиянию с клетками миеломы мыши для получения гибридом мыши–человека, секретирующих моноклональные антитела человека, и эти гибридомы мыши–человека можно подвергать скринингу для определения тех, которые секретируют моноклональные антитела человека, иммуноспецифически связывающиеся с целевым антигеном (например, ECD CD47 человека). Такие способы известны и описаны в уровне техники, см., например, Shinmoto et al., Cytotechnology, 2004, 46:19–23; Naganawa et al., Human Antibodies, 2005, 14:27–31.

[00162] Вариабельные домены антител с требуемой специфичностью связывания (сайты объединения антитело–антиген) могут быть слиты с последовательностями константного домена иммуноглобулина. Слияние предпочтительно происходит с константным доменом тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащим по меньшей мере часть шарнира CH2– и CH3–областей. Предпочтительным является наличие первой

константной области тяжелой цепи (CH1), содержащей сайт, необходимый для связывания легкой цепи, присутствующий по меньшей мере в одном из слияний. ДНК, кодирующие слияния тяжелой цепи иммуноглобулина и, если требуется, легкой цепи иммуноглобулина, встроены в отдельные векторы экспрессии и совместно трансфицированы в подходящий организм-хозяин. За дополнительными подробностями получения биспецифических антител см., например, Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 121:210 (1986).

[00163] В соответствии с другим подходом, описанным в WO 96/27011, граница раздела между парой молекул антител может быть сконструирована таким образом, чтобы максимизировать процентную долю гетеродимеров, которые извлекаются из культуры рекомбинантных клеток. Предпочтительная граница раздела содержит по меньшей мере часть CH3-области константного домена антитела. В этом способе одну или несколько небольших боковых цепей аминокислот из границы раздела первой молекулы антитела заменяют более крупными боковыми цепями (например, тирозина или триптофана). Компенсационные "полости", имеющие одинаковый или сходный размер с большой(–ыми) боковой(–ыми) цепью(–ями), образуются в участке границы раздела второй молекулы антитела путем замены больших боковых цепей аминокислот меньшими цепями (например, аланина или треонина). Это обеспечивает механизм увеличения выхода гетеродимера по сравнению с другими нежелательными конечными продуктами, такими как гомодимеры.

[00164] Биспецифические антитела могут быть получены в виде полноразмерных антител или фрагментов антител (например, биспецифические антитела $F(ab')_2$). Методики получения биспецифических антител из фрагментов антител описаны в литературе. Например, биспецифические антитела можно получать с использованием химической связи. Brennan et al., *Science* 229:81 (1985) описывают процедуру, при которой интактные антитела протеолитически расщепляются с образованием фрагментов $F(ab')_2$. Эти фрагменты восстанавливаются в присутствии дитиолового комплексообразующего средства на основе арсенита натрия для стабилизации вицинальных дитиолов и предотвращения образования межмолекулярных дисульфидов. Полученные фрагменты Fab' затем превращают в производные тионитробензоата (TNB). Затем одно из производных Fab' –TNB превращают в Fab' –тиол путем восстановления меркаптоэтиламинамином и смешивают с эквимольным количеством другого производного Fab' –TNB с образованием биспецифического антитела. Полученные биспецифические антитела можно применять как средства для селективной иммобилизации ферментов.

4.2.3 Фармацевтические композиции и наборы

[00165] В данном документе предусмотрены композиции, фармацевтические композиции и наборы, содержащие одно или несколько белковых терапевтических средств, описанных в данном документе. В данном документе также предусмотрены композиции, фармацевтические композиции и наборы, содержащие антитело к CD20, например ритуксимаб, отдельно или в комбинации с белковыми терапевтическими

средствами, описанными в данном документе. В частности, в данном документе предусмотрены композиции, фармацевтические композиции и наборы, содержащие одно или несколько антител (например, антител к CD47), описанных в данном документе, или их антигенсвязывающие фрагменты или их конъюгаты. В определенных аспектах композиции (например, фармацевтические композиции), описанные в данном документе, можно применять *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*. Неограничивающие примеры путей применения включают пути применения для снижения иммуногенности, пути применения для модуляции (например, ингибирования или индукции/усиления) активности CD47 и пути применения для контроля или лечения нарушения, например рака. В конкретных вариантах осуществления в данном документе предоставлена фармацевтическая композиция, содержащая антитело (например, гуманизированное антитело), описанное в данном документе (или его антигенсвязывающий фрагмент), и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество.

[00166] Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый" означает одобренный регулирующим ведомством федерального правительства США или правительства штата, или перечисленный в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения у животных организмов, а более конкретно у людей.

[00167] Композиции, содержащие одно или несколько антител, предусмотренных в данном документе, или их антигенсвязывающий фрагмент, могут быть получены для хранения путем смешивания антитела, имеющего требуемую степень чистоты, с необязательными физиологически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA; Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed. (2006) Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD). Такие составы могут, например, находиться в форме, например, лиофилизированных составов или водных растворов. Фармацевтические носители, подходящие для введения антител, предусмотренных в данном документе, включают любые такие носители, известные специалистам в данной области техники, которые подходят для конкретного способа введения. Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов при применяемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG).

[00168] Составы, применяемые для введения *in vivo*, могут быть стерильными. Этого легко достичь, например, с помощью фильтрации через, например, стерильные фильтрующие мембраны.

[00169] В конкретных аспектах фармацевтические композиции для применения в способах, предусмотренных в данном документе, содержат терапевтически эффективные количества одного или нескольких белковых терапевтических средств, предусмотренных в данном документе, в фармацевтически приемлемом носителе. В конкретных аспектах

фармацевтические композиции для применения в способах, предусмотренных в данном документе, содержат терапевтически эффективные количества антитела к CD20, например ритуксимаба, отдельно или в комбинации с одним или несколькими белковыми терапевтическими средствами, представленными в данном документе, в фармацевтически приемлемом носителе. В конкретных аспектах фармацевтические композиции для применения в способах, предусмотренных в данном документе, содержат терапевтически эффективные количества одного или нескольких антител или антигенсвязывающих фрагментов, предусмотренных в данном документе, в фармацевтически приемлемом носителе. Такие фармацевтические композиции применимы для предупреждения, лечения, контроля или улучшения состояния или нарушения, описанных в данном документе, или одного или нескольких их симптомов.

[00170] Композиции для применения в способах, предусмотренных в данном документе, могут содержать одно или несколько белковых терапевтических средств, предусмотренных в данном документе. Композиции для применения в способах, предусмотренных в данном документе, могут содержать ритуксимаб, один или в комбинации с одним или несколькими белковыми терапевтическими средствами, представленными в данном документе. Композиции для применения в способах, предусмотренных в данном документе, могут содержать одно или несколько антител, предусмотренных в данном документе, или их антигенсвязывающий фрагмент. В одном варианте осуществления предусмотрены композиции, где антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, составлены в подходящие фармацевтические препараты, такие как растворы, суспензии, порошки, составы с замедленным высвобождением или эликсиры в стерильных растворах или суспензиях для парентерального введения или в виде препарата для чрескожного введения и сухих порошковых ингаляторов.

[00171] В одном варианте осуществления композиции для применения в способах, предусмотренных в данном документе, составлены для однократного введения. Для составления композиции массовую долю соединения растворяют, суспендируют, диспергируют или иным образом смешивают в выбранном носителе в эффективной концентрации таким образом, что в состоянии, которое подвергают лечению, наступает облегчение, предупреждение или улучшение одного или нескольких симптомов.

[00172] В определенных аспектах антитело к CD20, например ритуксимаб, включено в фармацевтически приемлемый носитель в эффективном количестве, достаточном для оказания терапевтически полезного эффекта в отсутствие или с минимальными или незначительными нежелательными побочными эффектами в отношении пациента, которого подвергают лечению.

[00173] В определенных аспектах белковые лекарственные средства для применения в способах, предусмотренных в данном документе, включены в фармацевтически приемлемый носитель в эффективном количестве, достаточном для оказания терапевтически полезного эффекта в отсутствие или с минимальными или

незначительными нежелательными побочными эффектами в отношении пациента, которого подвергают лечению.

[00174] В определенных аспектах антитела для применения в способах, предусмотренных в данном документе, включены в фармацевтически приемлемый носитель в эффективном количестве, достаточном для оказания терапевтически полезного эффекта в отсутствие или с минимальными или незначительными нежелательными побочными эффектами в отношении пациента, которого подвергают лечению.

[00175] Концентрации белкового терапевтического средства, например антитела к CD47, в фармацевтической композиции для применения в способах, предусмотренных в данном документе, будут зависеть, например, от физико-химических характеристик антитела, схемы дозировки и вводимого количества, а также от других факторов.

[00176] Фармацевтические композиции для применения в описанных в данном документе способах предназначены для введения людям или животным (например, млекопитающим) в стандартных лекарственных формах, таких как стерильные растворы или суспензии для парентерального (например, внутривенного) введения, содержащие подходящие количества соединений или их фармацевтически приемлемых производных. Фармацевтические композиции также предназначены для введения людям и животным в стандартной лекарственной форме, такой как таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы и пероральные или назальные растворы или суспензии, а также эмульсии масло-вода, содержащие подходящие количества белкового терапевтического средства или его фармацевтически приемлемых производных. Белковое терапевтическое средство в одном варианте осуществления составляют и вводят в стандартных лекарственных формах или множественных лекарственных формах. Используемые в данном документе стандартные лекарственные формы относятся к физически дискретным единицам, подходящим для людей или животных (например, млекопитающих), и упакованным индивидуально. Каждая стандартная доза содержит заранее определенное количество белкового терапевтического средства, достаточного для получения требуемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем, связующим веществом или разбавителем. Примеры стандартных лекарственных форм включают ампулы и шприцы, а также индивидуально упакованные таблетки или капсулы. Стандартные лекарственные формы можно вводить в виде дробных частей или кратных им количеств. Множественная лекарственная форма представляет собой множество стандартных лекарственных форм, упакованных в отдельный контейнер, для введения в форме отдельных стандартных лекарственных форм. Примеры множественных лекарственных форм включают флаконы, бутылки с таблетками, или капсулы, или бутылки. Следовательно, в конкретных аспектах множественная лекарственная форма представляет собой множество стандартных лекарственных форм, которые не разделены в упаковке.

[00177] В определенных вариантах осуществления одно или несколько белковых терапевтических средств для применения в способах, описанных в данном документе,

находятся в жидком фармацевтическом составе. Жидкие фармацевтически вводимые композиции могут быть получены, например, путем растворения, диспергирования или иного смешивания антител и необязательных фармацевтических вспомогательных лекарственных веществ в носителе, таком как, например, вода, физиологический раствор, водная декстроза, глицерин, гликоли и т. п., с образованием таким образом раствора или суспензии. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция для введения, предусмотренная в данном документе, может также содержать незначительные количества нетоксичных вспомогательных материалов, таких как смачивающие средства, эмульгирующие средства, солюбилизующие средства и pH-буферные средства и т. п.

[00178] Способы получения таких дозированных форм известны или будут очевидны для специалистов в данной области техники; например, см. например Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA; Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed. (2006) Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

[00179] В одном варианте осуществления парентеральное введение подразумевает инъекцию, либо подкожно, внутримышечно или внутривенно. Инъекционные препараты можно получать в обычных формах, либо в виде жидких растворов или суспензий, твердых форм, подходящих для раствора или суспензии в жидкости перед инъекцией, либо в виде эмульсий. Инъекционные препараты, растворы и эмульсии также содержат одно или несколько вспомогательных веществ. Подходящими вспомогательными веществами являются, например, вода, физиологический раствор, декстроза, глицерин или этанол. Другие пути введения могут включать энтеральное введение, интрацеребральное введение, назальное введение, внутриартериальное введение, внутрисердечное введение, внутрикостная инфузия, интратекальное введение и внутрибрюшинное введение.

[00180] Препараты для парентерального введения включают стерильные растворы, готовые для инъекции, стерильные сухие растворимые продукты, такие как лиофилизированные порошки, готовые для объединения с растворителем непосредственно перед применением, в том числе таблетки для подкожных инъекций, стерильные суспензии, готовые для инъекции, стерильные сухие нерастворимые продукты, готовые для объединения со связующим веществом непосредственно перед применением, и стерильные эмульсии. Растворы могут быть водными или неводными.

[00181] При внутривенном введении подходящие носители включают физиологический солевой раствор или физиологический раствор с фосфатным буфером (PBS) и растворы, содержащие загущающие и солюбилизующие средства, такие как глюкоза, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль, и их смеси.

[00182] Фармацевтически приемлемые носители, используемые в парентеральных препаратах, включают водные носители, неводные носители, антимикробные средства, изотонические средства, буферы, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие средства, эмульгирующие средства, секвестрирующие или хелатирующие средства и другие фармацевтически приемлемые вещества.

[00183] Фармацевтические носители также включают этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешиваемых с водой носителей и гидроксид натрия, соляную кислоту, лимонную кислоту или молочную кислоту для регулирования pH.

[00184] В некоторых вариантах осуществления внутривенная или внутриартериальная инфузия стерильного водного раствора, содержащего белковое терапевтическое средство для применения в описанных в данном документе способах, представляет собой эффективный способ введения. В другом варианте осуществления предусмотрен стерильный водный или масляный раствор или суспензия, содержащие белковое терапевтическое средство, для применения в описанных в данном документе способах, вводимые по мере необходимости для получения требуемого фармакологического эффекта.

[00185] В конкретных вариантах осуществления белковое терапевтическое средство для применения в способах, описанных в данном документе, может быть суспендировано в микронизированной или другой подходящей форме. Форма получаемой в результате смеси зависит от ряда факторов, в том числе предполагаемого способа введения и растворимости соединения в выбранном носителе или связующем веществе.

[00186] В других вариантах осуществления фармацевтические составы представляют собой лиофилизированные порошки, которые можно восстанавливать для введения в виде растворов, эмульсий и других смесей. Их также можно восстанавливать и составлять в виде твердых веществ или гелей.

[00187] Лيوфилизированный порошок можно, например, получить путем растворения белкового терапевтического средства для применения в способах, предусмотренных в данном документе, в подходящем растворителе. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный порошок является стерильным. Подходящие растворители могут содержать вспомогательное вещество, которое улучшает стабильность, или другой фармакологический компонент порошка или восстановленного раствора, полученного из порошка. Вспомогательные вещества, которые можно применять, включают без ограничения декстрозу, сорбит, фруктозу, кукурузный сироп, ксилит, глицерин, глюкозу, сахарозу или другое подходящее средство. Подходящий растворитель также может содержать буфер, такой как цитрат, фосфат натрия или калия, или другой такой буфер, известный специалистам в данной области техники, в одном варианте осуществления при приблизительно нейтральном pH. Дальнейшая стерильная фильтрация раствора с последующей лиофилизацией в стандартных условиях, известных специалистам в данной области техники, дает пример состава. В одном варианте осуществления полученный раствор будет распределен во флаконы для лиофилизации. Лيوфилизированный порошок можно хранить в подходящих условиях, например, при температуре от приблизительно 4°C до комнатной температуры.

[00188] Восстановление такого лиофилизированного порошка водой для инъекций обеспечивает получение состава для применения в парентеральном введении. Для

восстановления, лиофилизированный порошок добавляют в стерильную воду или другой подходящий носитель.

[00189] В определенных аспектах белковое терапевтическое средство для применения в предусмотренных в данном документе способах может быть составлено для местного введения или местного применения, как например, для местного применения на коже и слизистых оболочках, таких как в глазу, в форме гелей, кремов и лосьонов и для нанесения на глаз или для интракостерального или интраспинального применения. Местное введение предназначено для трансдермальной доставки, а также для введения в глаза или слизистую оболочку или для видов ингаляционной терапии. Также можно вводить назальные растворы активного соединения отдельно или в комбинации с другими фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами.

[00190] Антитела к CD47, антитела к CD20, например ритуксимаб, и другие белковые терапевтические средства для применения в способах, предусмотренных в данном документе, также могут быть составлены так, чтобы быть нацеленными на конкретную ткань, орган или другой участок тела субъекта, которые подлежат лечению. Многие такие способы для нацеливания хорошо известны специалистам в данной области техники. Все такие способы для нацеливания рассмотрены в данном документе для применения в композициях, относящихся к данному изобретению. Для неограничивающих примеров способов для нацеливания, см., например, патенты США №№ 6316652, 6274552, 6271359, 6253872, 6139865, 6131570, 6120751, 6071495, 6060082, 6048736, 6039975, 6004534, 5985307, 5972366, 5900252, 5840674, 5759542 и 5709874. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD47, описанные в данном документе, нацеливают (или иным образом вводят) на органы зрения, костный мозг, желудочно-кишечный тракт, легкие, мозг или суставы. В конкретных вариантах осуществления описанное в данном документе антитело к CD47 способно преодолевать гематоэнцефалический барьер.

5. ПРИМЕРЫ

[00191] Примеры в этом разделе (т. е. разделе 5) предусмотрены для иллюстрации, а не для ограничения.

5.1 Пример 1 Совместное дозирование ритуксимаба и антитела к CD47 макакам–крабоядам

[00192] Цель исследования заключалась в мониторинге иммуногенности гуманизированного антитела к CD47, содержащего CDR варибельной области тяжелой цепи из SEQ ID NO:50, 72 и 52 и CDR варибельной области легкой цепи из SEQ ID NO: 53, 71 и 55 (далее "антитело к CD47") при совместном введении с ритуксимабом или ритуксимабом и метотрексатом и оценке его влияния на фармакокинетику после внутривенного введения макакам–крабоядам.

[00193] В первой части этого исследования антитело к CD47 вводили в виде четырех внутривенных инъекций (IV) 3 группам макак–крабоядов (5 животных/группа, всего 15 животных) в дни исследования 1, 8, 15 и 22 группе 1 и дни исследования 15, 22,

29 и 36 группам 2 и 3 в дозах, составляющих 20 мг/кг (дозы 1–4). Ритуксимаб вводили в виде четырех внутривенных инъекций животным группы 2 и группы 3 в дни исследования 1, 8, 15 и 22 в дозах, составляющих 10 мг/кг. Метотрексат вводили в виде трех подкожных инъекций животным группы 3 в дни исследования 15, 16 и 18 в дозах, составляющих 0,4 мг/кг.

[00194] Во второй части этого исследования антитело к CD47 вводили в виде одной внутривенной инъекции животным группы 1 и группы 3 в день исследования 78 в дозе, составляющей 20 мг/кг (доза 5). Метотрексат вводили в виде множественных подкожных инъекций животным группы 3 в дни исследования 71, 72, 74, 78, 79, 81, 88, 95, 102 и 109 в дозе, составляющей 0,4 мг/кг.

[00195] Данные по концентрации после первой, четвертой и пятой доз антитела к CD47 макакам–крабоядам применяли для фармакокинетических (PK) оценок, для понимания влияния совместно дозированных лекарственных средств на PK антитела к CD47. Иммуногенность антитела к CD47 оценивали с помощью оценки титра антител к лекарственному средству (ADA) в сыворотке (с "лекарственным средством", являющимся антителом к CD47), еженедельно на протяжении всего исследования. Количество В-клеток отслеживали еженедельно на протяжении всего исследования.

[00196] Все животные, которым вводили только антитело к CD47 (группа 1), становились положительными по ADA до введения дозы 4. Площадь антитела к CD47 под кривой зависимости концентрации в сыворотке от времени от нуля до 168 ч. (AUC_{0-168}) после введения дозы 4, измерения концентрации в сыворотке антитела к CD47 для пяти животных из группы 1 составляла 3–37% AUC_{0-168} после дозы 1.

[00197] Это снижение AUC после сероконверсии было связано с ADA–опосредованным снижением воздействия свободного антитела к CD47. Количество В-клеток CD20+ у этих животных было в пределах нормы. Количество периферических В-клеток CD20+ для всех животных, которые получали ритуксимаб (группы 2 и 3), быстро уменьшалось и составляло <100 клеток/мкл в течение 24 часов после получения первой дозы ритуксимаба. Количество В-клеток начинало восстанавливаться примерно на день 15 после введения первой дозы ритуксимаба у 8 из 10 животных в группах 2 и 3. Такое восстановление В-клеток связано с антителами к ритуксимабу, поскольку все животные имели обнаруживаемые антитела к ритуксимабу к дню 15 с соответствующими снижениями концентраций ритуксимаба в сыворотке. 8 животных, которые демонстрировали восстановление в количестве В-клеток, оказались положительными в отношении присутствия антител к лекарственному средству (ADA) к дню 36 с различными титрами от 5 до 625 и варьирующимися уровнями снижения воздействия у всех 8 животных в диапазоне от 2–53% AUC_{0-168} после дозы 1.

[00198] У животных 11 и 15, где поддерживались значительные концентрации ритуксимаба, количество периферических В-клеток CD20+ оставалось незначительным до дня 36 в случае введения этим животным четвертой дозы антитела к CD47. Эти двое животных, которые получили все 4 дозы антитела к CD47 в контексте эффективного

истощения В-клеток, оставались ADA-отрицательными в течение продолжительного времени до дня 71 и до конца исследования, соответственно. Концентрации антитела к CD47 после введения дозы 4 были аналогичны концентрациям, наблюдаемым после введения дозы 1, причем AUC_{0-168} на неделе 4 составлял 115% и 83% от средних значений AUC на неделе 1 у животных 11 и 15, соответственно.

[00199] Обезьянам, обработанным только антителом к CD47 (группа 1) или комбинацией всех трех средств (группа 3), затем повторно вводили антитело к CD47 через 12 недель (день 78). У двух животных 11 и 15, где развитие ADA было уменьшено путем эффективного истощения В-клеток, профили PK на неделе 12 были сопоставимы с профилями PK после 1 дозы антитела к CD47, и AUC_{0-168} на неделе 12 составлял 127% и 120% от среднего значения AUC_{0-168} после первой дозы, что подтверждает отсутствие опосредованной ADA потери воздействия на этих животных. Кроме того, уровни антител к лекарственному средству в сыворотке у этих двух животных поддерживались на низком уровне, причем обнаруживаемое лекарственное средство присутствовало в течение трех недель после последней дозы.

[00200] Концентрации антитела к CD47 у ADA-положительных животных были ниже предела количественного определения в течение 4 дней после последней дозы. Эти данные указывают на то, что истощение В-клеток ритуксимабом снижает иммунный ответ в отношении антител к CD47 и увеличивает воздействие лекарственного средства в течение продолжительных периодов времени. Кроме того, не наблюдалось токсичности у обезьян при применении антител к CD47 плюс ритуксимаб или при применении антител к CD47 плюс ритуксимаб плюс метотрексат.

5.2 Пример 2. Клиническое исследование антител к CD47 в комбинации с ритуксимабом

[00201] В данном документе описано открытое исследование фазы 1 с эскалацией дозы и расширением числа пациентов антитела к CD47, вводимого путем внутривенной (IV) инфузии, у субъектов с запущенным резистентным солидным и гематологическим раком. Исследование состояло из 2 частей. Часть А представляет собой фазу эскалации дозы, в которой используются возрастающие дозы антитела к CD47, а часть В представляет собой фазу эскалации и расширения, в которой антитело к CD47 в комбинации с ритуксимабом вводят субъектам с CD20-положительной неходжкинской лимфомой (NHL). Расширение может происходить при максимальной переносимой дозе (MTD), установленной в фазе эскалации дозы, и/или при более низкой дозе, или при альтернативном допустимом режиме дозирования, основанном на обзоре данных по безопасности, PK и фармакодинамике из части А. Измененная схема эскалации дозы 3+3 используется для определения начальной токсичности антитела к CD47. Когорты от 3 до 6 оцениваемых субъектов подвергали лечению с помощью антитела к CD47 при определенных схемах дозирования, и в случае токсичности, ограничивающей дозу (DLT) у одного субъекта, когорты расширяли до полной когорты из 6 оцениваемых субъектов. В данной когорте дозы субъекты от 4 до 6 могли быть зарегистрированы до того, как первые

3 субъекта завершат цикл 1, для получения дополнительной информации о безопасности и обеспечения достаточного количества оцениваемых пациентов для оценки DLT. В данную когорту эскалации дозы включали не более одного субъекта в день.

[00202] Дозы включали 0,3 мг/кг IV один раз в неделю (QW) и 1, 2, 4, 8, 15 и 20 мг/кг один раз каждые 2 недели (Q2W). Во время эскалации дозы принимали решение оценить когорту с более низкой дозой, когорты с промежуточной дозой, альтернативный интервал дозирования или объявить MTD на основе анализа клинических и лабораторных данных о безопасности для когорт с предшествующей дозой. Все виды лечения вводили в ходе 28-дневных циклов, и антитело к CD47 вводили на D1 и D15. После введения первой дозы в любой когорте субъектов наблюдали в течение по меньшей мере 28 дней (цикл 1, окно DLT), прежде чем начать вводить следующую более высокую, определенную протоколом дозу когорты.

[00203] Начальная доза для группы 1 составляла 0,3 мг/кг в день 1 цикла 1, после чего следовал 1 мг/кг QW.

[00204] Для части В у субъектов с рецидивирующей или рефрактерной CD20-положительной неходжкинской лимфомой, которые ранее получали ритуксимаб, дозирование ритуксимаба по 375 мг/м² один раз в неделю начинали за две недели до введения антитела к CD47. Дозирование ритуксимаба осуществляли четырьмя недельными дозами до и во время цикла 1 (D-15, D-8, D-1, D8), один раз в каждом цикле для циклов 2-6 (в D8) и, при наличии ответа, в дальнейшем каждые два месяца до 12 циклов (циклы 8, 10 и 12). Оценивали серийное количество В-клеток и РК. Кроме того, оценки РК, PD и ADA выполняли так же, как и для части А.

[00205] Критерии включения

1. Мужчины и женщины 18 лет и старше с запущенными, рецидивирующими или рефрактерными солидными опухолями, множественной миеломой (MM) или неходжкинской лимфомой (NHL) в части А.

В части В только субъекты с рецидивирующими или рефрактерными CD20-положительными NHL.

2. По меньшей мере одна локализация измеримого заболевания у субъектов с солидными опухолями и NHL.

3. Статус общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе (ECOG PS) 0 или 1.

4. Субъекты должны иметь адекватную гематопозитическую, печеночную, почечную и коагуляционную функцию в соответствии с конкретными лабораторными критериями.

5. Женщины и мужчины должны дать согласие на способы контрацепции и избегать зачатия на протяжении всего исследования и в течение до 8 недель после последней дозы антитела к CD47. Принимая участие в части В, женщины с детородным потенциалом должны продолжать использовать эффективные способы контрацепции в течение 12 месяцев после лечения ритуксимабом.

[00206] Критерии исключения

1. Лимфомы высокой степени (Беркитта или лимфобластная), плазматическая лейкемия.
2. Быстро прогрессирующие солидные опухоли высокой степени (например, мелкоклеточный рак легкого, опухоли зародышевых клеток, нейробластома) с обширной опухолевой нагрузкой.
3. Симптоматическое поражение центральной нервной системы.
4. Нарушение функции сердца или клинически значимое заболевание сердца.
5. Предшествующее переливание эритроцитов (RBC) менее чем за 3 месяца до введения антител к CD47.
6. Предшествующая трансплантация аутологичных стволовых клеток ≤ 3 месяца до введения антител к CD47.
7. Предварительная трансплантация аллогенных стволовых клеток со стандартной или пониженной интенсивностью кондиционирования ≤ 6 месяцев до введения антител к CD47.
8. Предшествующее системное лечение рака или методы исследования ≤ 5 периодов полураспада или 4 недели до введения антител к CD47 в зависимости от того, какой период короче.
9. Обширное хирургическое вмешательство ≤ 2 недели до введения антитела к CD47.
10. Беременные или кормящие женщины.
11. Известная ВИЧ-инфекция.
12. Известная хроническая инфекция гепатита В или С (HBV/HCV).
13. Постоянное лечение с помощью длительного терапевтического дозирования антикоагулянтов.
14. В анамнезе аутоиммунная гемолитическая анемия или аутоиммунная тромбоцитопения.
15. В анамнезе сопутствующие вторичные раковые заболевания, требующие активного постоянного системного лечения.

[00207] Все ссылки (например, публикации, или патенты, или патентные заявки), цитируемые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте и для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная ссылка (например, публикация, или патент, или заявка на патент) была конкретно и индивидуально указана для включения посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей.

[00208] Другие варианты осуществления находятся в пределах объема следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ снижения иммуногенности у субъекта, включающий введение субъекту ритуксимаба в комбинации с белковым терапевтическим средством, где иммуногенность снижается по сравнению с иммуногенностью у субъекта в случае введения белкового терапевтического средства отдельно.

2. Способ по п. 1, где белковое терапевтическое средство представляет собой терапевтическое средство на основе антитела.

3. Способ по п. 1, где белковое терапевтическое средство представляет собой цитокин.

4. Способ по п. 1, где белковое терапевтическое средство представляет собой интерлейкин.

5. Способ по п. 1, где белковое терапевтическое средство не является ферментом.

6. Способ по п. 2, где терапевтическое средство на основе антитела представляет собой антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент.

7. Способ по п. 6, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит определяющую комплементарность область (CDR) 1 варибельной области тяжелой цепи (VH), содержащую SEQ ID NO: 50, CDR2 VH, содержащую SEQ ID NO: 72, последовательность CDR3 VH, содержащую SEQ ID NO: 52, CDR1 варибельной области легкой цепи (VL), содержащую SEQ ID NO: 53, CDR2 VL, содержащую SEQ ID NO: 71, и CDR3 VL, содержащую SEQ ID NO: 55.

8. Способ по п. 6, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30.

9. Способ по п. 6, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47.

10. Способ по п. 6, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30, и VL, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47.

11. Способ по п. 6, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR1 VH, содержащую SEQ ID NO: 50, CDR2 VH, содержащую SEQ ID NO: 51, CDR3 VH, содержащую SEQ ID NO: 52, CDR1 VL, содержащую SEQ ID NO: 53, CDR2 VL, содержащую SEQ ID NO: 54, и CDR3 VL, содержащую SEQ ID NO: 55.

12. Способ по п. 6, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG, выбранный из группы, состоящей из изотипа IgG1, изотипа IgG2, изотипа IgG3 и изотипа IgG4.

13. Способ по п. 6, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG, выбранный из IgG4P и

IgG4PE.

14. Способ по п. 6, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент является компонентом фармацевтической композиции, содержащей антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель.

15. Способ по любому из пп. 6–14, где антитело является химерным, гуманизированным или полностью человеческим.

16. Способ по любому из пп. 1–15, где субъектом является человек.

17. Способ по любому из пп. 1–15, дополнительно предусматривающий применение химиотерапии.

18. Способ по п. 17, где указанная химиотерапия представляет собой лучевую терапию.

19. Способ по любому из пп. 7–17, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг.

20. Способ по любому из пп. 1–19, где ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450 или 500 мг/м².

21. Способ по любому из пп. 7–20, где ритуксимаб вводят перед антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом.

22. Способ по любому из пп. 1–21, где способ не предусматривает введение субъекту ингибитора протеасом.

23. Способ по п. 22, где способ не предусматривает введение субъекту бортезомиба.

24. Способ по любому из пп. 1–23, где способ не предусматривает введение субъекту метотрексата.

25. Способ лечения рака, где способ предусматривает введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающего фрагмента, где способ дополнительно предусматривает введение субъекту ритуксимаба.

26. Способ по п. 25, где ритуксимаб вводят перед антителом, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающим фрагментом.

27. Способ по п. 25 или п. 26, дополнительно предусматривающий применение лучевой терапии или химиотерапии.

28. Способ по любому из пп. 25–27, дополнительно предусматривающий введение другого противоракового средства.

29. Способ по любому из пп. 25–28, где рак представляет собой гематологический рак.

30. Способ по любому из пп. 25–28, где рак представляет собой солидный рак.

31. Способ по любому из пп. 25–28, где рак представляет собой множественную миелому, неходжкинскую лимфому, острый миелоидный лейкоз (AML), рак молочной

железы, рак мочевого пузыря, немелкоклеточный рак легкого/карциному, гепатоцеллюлярную карциному (НСС), саркому или рак головы и шеи.

32. Способ по п. 31, где рак представляет собой неходжкинскую лимфому.

33. Способ по п. 32, где неходжкинская лимфома является CD20–положительной.

34. Способ по п. 31 или п. 32, где неходжкинская лимфома является рецидивирующей или рефрактерной.

35. Способ по любому из пп. 25–34, где субъект ранее получал лечение ритуксимабом.

36. Способ по любому из пп. 25–35, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту в дозе, составляющей 0,3, 1, 2, 4, 8, 15, или 20 мг/кг.

37. Способ по любому из пп. 25–36, где ритуксимаб вводят субъекту в дозе, составляющей 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450 или 500 мг/м².

38. Способ по любому из пп. 25–37, где способ не предусматривает введение субъекту ингибитора протеасом.

39. Способ по п. 38, где способ не предусматривает введение субъекту бортезомиба.

40. Способ по любому из пп. 25–39, где способ не предусматривает введение субъекту метотрексата.

41. Способ по любому из пп. 25–40, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR1 VH, содержащую SEQ ID NO: 50, CDR2 VH, содержащую SEQ ID NO: 72, последовательность CDR3 VH, содержащую SEQ ID NO: 52, CDR1 варибельной области легкой цепи (VL), содержащую SEQ ID NO: 53, CDR2 VL, содержащую SEQ ID NO: 71, и CDR3 VL, содержащую SEQ ID NO: 55.

42. Способ по любому из пп. 25–40, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30.

43. Способ по любому из пп. 25–40, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47.

44. Способ по любому из пп. 25–40, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5–30, и VL, содержащую последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 31–47.

45. Способ по любому из пп. 25–40, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR1 VH, содержащую SEQ ID NO: 50, CDR2 VH, содержащую SEQ ID NO: 51, CDR3 VH, содержащую SEQ ID NO: 52, CDR1 VL, содержащую SEQ ID NO: 53, CDR2 VL, содержащую SEQ ID NO: 54, и CDR3 VL, содержащую SEQ ID NO: 55.

46. Способ по любому из пп. 25–45, где антитело, которое связывается с CD47, или

его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG, выбранный из группы, состоящей из изотипа IgG1, изотипа IgG2, изотипа IgG3 и изотипа IgG4.

47. Способ по любому из пп. 25–45, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой изотип IgG, выбранный из IgG4P и IgG4PE.

48. Способ по любому из пп. 25–47, где антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент является компонентом фармацевтической композиции, содержащей антитело, которое связывается с CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель.

49. Способ по любому из пп. 25–48, где антитело является химерным, гуманизированным или полностью человеческим.

50. Способ по любому из пп. 25–49, где субъектом является человек.

По доверенности