

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202090054** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2020.05.22

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*C07K 16/28* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2018.06.15

**(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИИ**

(31) 1709554.8; 1718589.3

(32) 2017.06.15; 2017.11.10

(33) GB

(86) PCT/EP2018/065947

(87) WO 2018/229249 2018.12.20

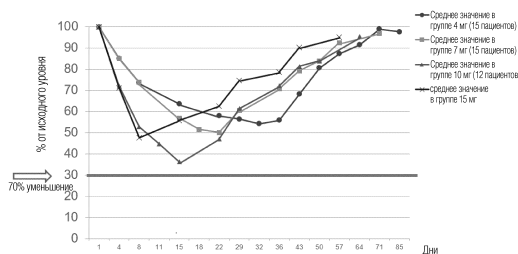
(71) Заявитель:  
ЮСБ БИОФАРМА СРЛ (BE)

(72) Изобретатель:

Льедо-Гарсия Росио, Лэнгдон Грант  
(GB), Кисслинг Клаус Петер (DE),  
Снайпс Роуз Гюнтер (US), Массов Уте  
(DE)

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

(57) Изобретение относится к способу лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопенической пурпуры (ИТП) у человека, где способ включает введение человеку от 1 до 5 доз анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента во время лечения длительностью от 1 до 12 недель, при этом суммарная доза во время лечения составляет от 1 до 30 мг на 1 кг.



\*Среднее значение в группе 4 мг: отсутствуют данные для дня 11 и дня 18

\*Среднее значение в группе 7 мг: отсутствуют данные для дня 11, дня 32 и дня 64

\*Среднее значение в группе 10 мг: отсутствуют данные для дня 11, дня 32 и дня 57

\*Среднее значение в группе 15 мг: отсутствуют данные для дня 11, дня 18, дня 32 и дня 50

202090054

A1

A1

202090054

**СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИИ**

Настоящее изобретение относится к способу лечения иммунной (идиопатической) тромбоцитопении (ИТР, ИТП) с помощью антител, специфичных к FcRn.

Неонатальный FcRn, подобный MHC класса I, обеспечивает рециркуляцию иммуноглобулина и альбумина из большинства клеток и их транспортировку в двух направлениях через эпителиальные барьеры с оказанием воздействия на системный иммунитет и иммунитет слизистых оболочек. Было показано, что FcRn спасает как IgG, так и альбумин от внутриклеточной лизосомальной деградации путем рециркуляции из сортирующей эндосомы к клеточной поверхности (Anderson et al, 2006). В случае IgG, это достигается через взаимодействие IgG с рецептором FcRn. Таким образом, в действительности FcRn реутилизует IgG, спасая его от деградации и возвращая в кровоток. Рециркуляция альбумина происходит аналогичным образом с помощью FcRn, хотя и через другой связывающий участок на молекуле FcRn. Было показано, что нокаут или блокада FcRn устраняет эту рециркуляцию, приводя к эндосомальному катаболизму IgG и заметному снижению концентрации IgG как в сосудистых, так и во внесосудистых (тканевых) компартментах. По сути, блокада FcRn ускоряет удаление эндогенного IgG и, возможно, альбумина, если альбумин-связывающий сайт также заблокирован.

Идиопатическая или иммунная тромбоцитопения (ИТР), также известная как иммунная (идиопатическая) тромбоцитопеническая пурпура (ИТП), представляет собой клиническое заболевание, при котором тромбоцитопения проявляется в виде склонности к кровотечению, образованию пурпуры или петехии. Аутоантитела к тромбоцитарным антигенам считаются отличительной чертой ИТР. Продуцирование патогенных аутоантител IgG плазматическими клетками признано в качестве основного патофизиологического механизма, лежащего в основе ряда аутоиммунных заболеваний, опосредованных IgG, включая ИТР. У некоторых пациентов антитела распознают антигены, полученные из одного гликопротеина, тогда как у других антитела распознают несколько гликопротеинов. Селезенка является ключевым органом в патофизиологии ИТР не только потому, что тромбоцитарные аутоантитела образуются в белой пульпе, но также и потому, что мононуклеарные макрофаги в красной пульпе разрушают покрытые иммуноглобулинами тромбоциты (Sandler, Semin Hematol. 2000; 37 (1 Suppl. 1):10-2).

Недавно были введены новые определения фаз этого заболевания (Rodeghiero et al., 2009 Blood. 2009; 113 (11): 2386-93). В зависимости от времени постановки диагноза первая фаза (до 3 месяцев) представляет собой «впервые диагностированную ИТР», фаза 2 (от >3 месяцев до 12 месяцев) представляет собой «персистирующую фазу», а спустя 12 месяцев начинается «хроническая фаза». Эти фазы также отражают линию терапии.

Основной целью лечения ИТР является достижение количества тромбоцитов, которое предотвращает сильное кровотечение, а не коррекция количества тромбоцитов до нормального уровня. Лечение ИТР должно быть адаптировано к отдельному пациенту, и

оно редко назначается пациентам с количеством тромбоцитов более  $50 \times 10^9/\text{л}$  при отсутствии кровотечений, травм, операций или факторов высокого риска (например, пациентам, получающим антикоагулянтную терапию) (ЕМА/CHMP/153191/2013, 2014). Тем не менее, общепринято, что взрослые с показателем  $<30 \times 10^9/\text{л}$  с кровотечением при диагностике, нуждаются в лечении.

Терапия первой линии недавно диагностированной ИТР в целом согласована и основана на использовании кортикостероидов и внутривенного иммуноглобулина (IVIg). Пациенты, у которых нет ответа на терапию или у которых наблюдается рецидив, сталкиваются с вариантами медикаментозной терапии второй линии или спленэктомией, однако четкие свидетельства в поддержку наилучшего подхода отсутствуют. Спленэктомия может обеспечить долгосрочную эффективность примерно в 60% случаев, и в последних руководствах предлагается рассмотреть целесообразность проведения спленэктомии через 12 месяцев. Спленэктомия представляет собой инвазивную процедуру, связанную с острыми осложнениями, вызванными тромбоцитопенией (например, кровотечениями), и долгосрочными осложнениями вследствие потери функций селезенки. Аспленические субъекты имеют повышенный риск возникновения инфекций, угрожающих жизни. Спленэктомия может увеличить заболеваемость венозной тромбоэмболией или атеросклерозом (Ghanima et al, 2012).

Медикаментозная терапия второй линии включает высокие дозы дексаметазона или метилпреднизолона; высокие дозы IVIg или анти-D Ig; алкалоиды барвинка; дапсон и даназол; иммунодепрессанты, такие как циклофосфамид, азатиоприн и циклоспорин; или микофенолата мофетил и уничтожение *Helicobacter pylori*, если применимо. Ритуксимаб, моноклональное анти-CD20 антитело несмотря на то, что оно не является лицензированным для лечения ИТР, и агонисты рецептора тромбопоэтина (ТРО-R) рассматриваются как варианты второй линии, так и варианты третьей линии.

Заболеваемость, связанная с лечением, также является существенным обуславливающим фактором; для сохранения количества тромбоцитов в безопасном диапазоне у пациентов с хронической резистентной к лечению ИТР могут потребоваться длительные курсы приема кортикостероидов, других иммунодепрессантов или спленэктомия, и с лечением могут быть связаны заболеваемость и смертность, отражая осложнения, вызванные терапией кортикостероидами или спленэктомией. Таким образом, остается высокая неудовлетворенная медицинская потребность в новых терапевтических вариантах лечения ИТР.

Соответственно, агенты, которые блокируют или уменьшают связывание IgG с FcRn, могут быть полезными при лечении или профилактике ИТР благодаря удалению патогенного IgG. Анти-FcRn антитела описаны ранее в WO2009/131702, WO2007/087289, WO2006/118772, WO2014/019727, WO2015/071330, WO2015/167293 и WO2016/123521.

UCB7665 (розаноликсизумаб) представляет собой гуманизированное моноклональное анти-FcRn антитело, которое специально разработано для ингибирования связывания IgG с FcRn без ингибирования связывания альбумина с FcRn (описано в

настоящей заявке и в WO2014/019727). UCB7665 разработано в качестве ингибитора активности FcRn с целью уменьшения концентрации патогенного IgG у пациентов с ИТП. UCB7665 получено из антитела крысы со специфичностью к человеческому FcRn в процессе конструирования антитела крысы в формате гуманизированного IgG4P. Конструкцию, кодирующую UCB7665, создавали с помощью прививки определяющих комплементарность областей (CDR) из вариабельных областей крысиных родительских тяжелой и легкой цепей на человеческий IgG4P и генетически исходную каппа-цепь (SEQ ID NO: 43 и SEQ ID NO: 22, соответственно).

### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

В настоящем изобретении впервые продемонстрирована терапевтическая эффективность анти-FcRn антител в лечении ИТП у людей и раскрыты подходящие схемы дозирования для такого лечения.

Таким образом, в одном из аспектов предложен способ лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопении (ИТП) у человека, включающий введение человеку от 1 до 5 доз анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель, при этом суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг.

В одном из примеров анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

а. тяжелую цепь или фрагмент тяжелой цепи, имеющий вариабельную область, где указанная вариабельная область содержит три CDR, имеющие последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 1 для CDR H1, SEQ ID NO: 2 для CDR H2 и SEQ ID NO: 3 для CDR H3, и

б. легкую цепь или фрагмент легкой цепи, имеющий вариабельную область, где указанная вариабельная область содержит три CDR, имеющие последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 4 для CDR L1, SEQ ID NO: 5 для CDR L2 и SEQ ID NO: 6 для CDR L3.

В другом аспекте предлагается анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент для применения в лечении или профилактике идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП) у человека, включающее введение человеку от 1 до 5 доз антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель, при этом суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг.

В другом аспекте предлагается анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее:

тяжелую цепь или фрагмент тяжелой цепи, имеющий вариабельную область, где указанная вариабельная область содержит три CDR, имеющие последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 1 для CDR H1, SEQ ID NO: 2 для CDR H2 и SEQ ID NO: 3 для CDR H3, и

легкую цепь или фрагмент легкой цепи, имеющий вариабельную область, содержащую три CDR, имеющие последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 4 для

CDR L1, SEQ ID NO: 5 для CDR L2 и SEQ ID NO: 6 для CDR L3,

для применения в лечении или профилактике иммунной (идиопатической) тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), включающем введение от 1 до 5 доз антитела или антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель,

при этом суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг.

В другом аспекте предлагается применение анти-FcRn антитела или его связывающего фрагмента, содержащего:

i. тяжелую цепь или фрагмент тяжелой цепи, имеющий вариабельную область, где указанная вариабельная область содержит три CDR, имеющие последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 1 для CDR H1, SEQ ID NO: 2 для CDR H2 и SEQ ID NO: 3 для CDR H3, и

ii. легкую цепь или фрагмент легкой цепи, имеющий вариабельную область, содержащую три CDR, имеющие последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 4 для CDR L1, SEQ ID NO: 5 для CDR L2 и SEQ ID NO: 6 для CDR L3,

для изготовления лекарственного средства для лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), включающего введение от 1 до 5 доз антитела или антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель,

при этом суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг.

Важно отметить, что антитела по настоящему изобретению способны связываться с человеческим FcRn как при pH 6, так и при pH 7,4 с сопоставимым и высоким сродством связывания. Следовательно, преимуществом является то, что антитела сохраняют способность связываться с FcRn даже внутри эндосомы, тем самым обеспечивая максимальное блокирование связывания FcRn с IgG.

В одном из примеров анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент для применения по настоящему изобретению связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит по меньшей мере одну аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из остатков V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO: 94, и по меньшей мере один остаток, например, по меньшей мере, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков, выбранных из группы, состоящей из P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 и E133 SEQ ID NO: 94.

В одном из вариантов осуществления антитела или связывающие фрагменты по настоящему изобретению содержат легкую цепь или фрагмент легкой цепи, имеющий вариабельную область, например, включающий одну, две или три CDR, независимо выбранные из SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, в частности, где CDR L1 представляет собой SEQ ID NO: 4, CDR L2 представляет собой SEQ ID NO: 5, и CDR L3 представляет собой SEQ ID NO: 6.

В одном из вариантов осуществления антитела или связывающие фрагменты по

настоящему изобретению содержат последовательности CDR SEQ ID NO: 1-6, например, где CDR H1 представляет собой SEQ ID NO: 1, CDR H2 представляет собой SEQ ID NO: 2, CDR H3 представляет собой SEQ ID NO: 3, CDR L1 представляет собой SEQ ID NO: 4, CDR L2 представляет собой SEQ ID NO: 5, и CDR L3 представляет собой SEQ ID NO: 6.

Настоящее изобретение также включает полинуклеотид, такой как ДНК, кодирующий описанное в настоящей заявке антитело или фрагмент.

Также предоставляется клетка-хозяин, содержащая указанный полинуклеотид.

Настоящее изобретение относится к способам экспрессии антитела или фрагмента, а также способам конъюгирования антитела или фрагмента с полимером, таким как ПЭГ.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим указанные антитела и фрагменты.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

На фиг. 1 показаны некоторые аминокислотные и полинуклеотидные последовательности.

На фиг. 2 показано выравнивание некоторых последовательностей.

На фиг. 3 представлены схемы дозирования ИТР.

На фиг. 4 показан инструмент для оценки кровотечений при ИТР (ИТР-ВАТ)

На фиг. 5 показано среднее уменьшение IgG после введения UCB7665.

На фиг. 6 показано среднее количество тромбоцитов (только у пациентов с ответом на лечение) после введения UCB7665.

На фиг. 7 показано среднее уменьшение IgG после нескольких введений 4, 7, 10 мг/кг и однократного введения 15 мг/кг UCB7665

### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ**

В контексте настоящего описания термин FcRn относится к нековалентному комплексу между альфа-цепью рецептора человеческого IgG, также известного как неонатальный Fc-рецептор, аминокислотная последовательность которого находится в UniProt под номером P55899, с  $\beta$ 2-микроглобулином ( $\beta$ 2M), аминокислотная последовательность которого находится в UniProt под номером P61769.

Используемая в настоящем изобретении молекула антитела относится к антителу или его связывающему фрагменту.

В контексте настоящего описания термин «антитело», как правило, относится к интактным (цельным) антителам, т.е. содержащим элементы двух тяжелых цепей и двух легких цепей. Антитело также может содержать дополнительные связывающие домены, например, как в молекуле DVD-Ig, описанной в WO 2007/024715, или так называемом (FabFv)<sub>2</sub>Fc, описанном в WO 2011/030107. Таким образом, антитело в том виде, как используется в настоящем изобретении, включает двух-, трех- или четырехвалентные полноразмерные антитела.

Антигенсвязывающие фрагменты антител включают одноцепочечные антитела (т.е. полноразмерные тяжелую и легкую цепи); Fab, модифицированный Fab, Fab', модифицированный Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, Fab-Fv, Fab-dsFv, однодоменные антитела (например,

VH или VL или VHH), scFv, би-, три- или тетравалентные антитела, bis-scFv, диатела, тритела, триатела, тетратела и эпитоп-связывающие фрагменты любого из вышеперечисленного (см., например, Holliger and Hudson, 2005, *Nature Biotech.* 23(9):1126-1136; Adair and Lawson, 2005, *Drug Design Reviews - Online* 2(3), 209-217). Способы создания и изготовления этих фрагментов антител хорошо известны в данной области (см., например, Verma et al., 1998, *Journal of Immunological Methods*, 216, 165-181). Формат Fab-Fv впервые описан в WO2009/040562, а его версия, стабилизированная дисульфидными связями, Fab-dsFv, впервые описана в WO2010/035012. Другие фрагменты антител для применения в настоящем изобретении включают фрагменты Fab и Fab', описанные в международных заявках на патент WO 2005/003169, WO 2005/003170 и WO 2005/003171. Поливалентные антитела могут иметь несколько специфичностей, например, могут быть биспецифическими или могут быть моноспецифическими (см., например, WO 92/22583 и WO 05/113605). Одним из примеров последнего является tri-Fab (или TFM), описанное в WO92/22583.

Типичная молекула Fab' содержит пару тяжелой и легкой цепей, где тяжелая цепь содержит вариабельную область  $V_H$ , константный домен  $C_{H1}$  и природную или модифицированную шарнирную область, а легкая цепь содержит вариабельную область  $V_L$  и константный домен  $C_L$ .

В одном из вариантов осуществления предложен димер Fab' по настоящему изобретению для создания  $F(ab')_2$ ; димеризацию, например, можно осуществить с использованием шарнирной области.

В одном из вариантов осуществления антитело или его связывающий фрагмент содержит связывающий домен. Связывающий домен обычно содержит 6 CDR: три из тяжелой цепи и три из легкой цепи. В одном из вариантов осуществления CDR находятся в каркасном участке и вместе образуют вариабельную область. Таким образом, в одном из вариантов осуществления антитело или связывающий фрагмент содержит связывающий домен, специфичный для антигена, содержащий вариабельную область легкой цепи и вариабельную область тяжелой цепи.

Понятно, что в CDR или другие последовательности (например, вариабельные домены), предлагаемые в настоящем изобретении, могут быть введены одна или более (например, 1, 2, 3 или 4) аминокислотных замен, добавлений и/или делеций, которые не приводят к существенному изменению способности антитела связываться с FcRn. Влияние любых аминокислотных замен, добавлений и/или делеций может быть легко протестировано специалистом в данной области, например, способами, описанными в WO 2014/019727, для определения связывания и блокирования FcRn.

В одном из примеров одна или более (например, 1, 2, 3 или 4) аминокислотных замен, добавлений и/или делеций могут быть введены в каркасный участок, используемый в раскрытом в настоящем изобретении антителе или фрагменте с сохранением или усилением сродства связывания FcRn.

Остатки в вариабельных доменах антител обычно нумеруют в соответствии с

системой, разработанной Kabat et al. Эта система изложена в Kabat et al., 1987, в *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, US Department of Health and Human Services, NIH, USA (далее «Kabat et al. (см. выше)»). В настоящем описании используется эта система нумерации, если не указано иное.

Обозначения остатков по Кабат не всегда напрямую соответствуют линейной нумерации аминокислотных остатков. Фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньше или дополнительные аминокислоты относительно строгой нумерации по Кабат, что соответствует укорочению или вставке в структурный компонент (будь то каркасный участок или область, определяющая комплементарность (CDR)) основной структуры вариабельного домена. Правильная нумерация остатков по Кабат может быть определена для заданного антитела путем выравнивания гомологичных остатков в последовательности антитела относительно «стандартной» последовательности, пронумерованной по Кабат.

CDR вариабельного домена тяжелой цепи расположены в остатках 31-35 (CDR-H1), остатках 50-65 (CDR-H2) и остатках 95-102 (CDR-H3) согласно системе нумерации по Кабат. Однако, согласно Чотиа (Chothia, C. and Lesk, *AMJ Mol. Biol.*, 196, 901-917 (1987)), петля, эквивалентная CDR-H1, простирается от остатка 26 до остатка 32. Таким образом, если не указано иное, в контексте настоящего описания «CDR-H1» относится к остаткам 26-35, согласно комбинации системы нумерации по Кабат с топологическим определением петли по Чотиа.

CDR вариабельного домена легкой цепи расположены в остатках 24-34 (CDR-L1), остатках 50-56 (CDR-L2) и остатках 89-97 (CDR-L3) согласно системе нумерации по Кабат.

Антитела и фрагменты по настоящему изобретению блокируют FcRn и могут таким образом препятствовать его функционированию в рециркуляции IgG. В контексте настоящего изобретения блокирование относится к физическому блокированию, такому как окклюзия рецептора, но также включает случаи, когда антитело или фрагменты связываются с эпитопом, вызывая, например, конформационное изменение, которое означает, что природный лиганд больше не может связываться с рецептором. Молекулы антител по настоящему изобретению связываются с FcRn и тем самым уменьшают или предотвращают (например, ингибируют) связывание FcRn с константной областью IgG.

В одном из вариантов осуществления антитело или его фрагмент связывается с FcRn конкурентно по отношению к IgG.

В одном из примеров антитело или его связывающий фрагмент функционирует в качестве конкурентного ингибитора связывания человеческого FcRn с человеческим IgG. В одном из примеров антитело или его связывающий фрагмент связывается с IgG-связывающим участком на FcRn. В одном из примеров антитело или его связывающий фрагмент не связывается с  $\beta 2M$ .

Антитела для использования в настоящем изобретении могут быть получены любым подходящим способом, известным в данной области. Для получения антител,



которые специфически распознают FcRn, можно использовать полипептид/белок FcRn, включая слитые белки, клетки, (рекомбинантно или естественно) экспрессирующие полипептид (такие как активированные Т-клетки). Полипептид может представлять собой «зрелый» полипептид или его биологически активный фрагмент или производное. Человеческий белок зарегистрирован в Swiss-Prot под номером P55899. Внеклеточный домен человеческой альфа-цепи FcRn представлен в SEQ ID NO: 94. Последовательность  $\beta$ 2M представлена в SEQ ID NO: 95.

В одном из вариантов осуществления антиген представляет собой мутантную форму FcRn, которая создана для презентации FcRn на поверхности клетки так, что при интернализации FcRn в клетке происходит или отсутствует небольшой динамический процессинг, что может быть, например, достигнуто с помощью мутации в цитоплазматическом хвосте альфа-цепи FcRn, при которой ди-лейцин мутирует в ди-аланин, как описано в Ober et al. 2001 Int. Immunol. 13, 1551-1559.

Полипептиды, используемые для иммунизации хозяина, могут быть получены способами, хорошо известными в данной области, из полученных методами генной инженерии клеток-хозяев, содержащих системы экспрессии, или они могут быть получены из природных биологических источников. В настоящей заявке термин «полипептиды» включает пептиды, полипептиды и белки, которые используются взаимозаменяемо, если не указано иное. В некоторых случаях полипептид FcRn может быть частью более крупного белка, такого как гибридный белок, например, слитый с аффинной или аналогичной меткой.

Антитела к полипептиду FcRn могут быть получены, когда необходима иммунизация животного, путем введения полипептидов животному, предпочтительно животному, не являющемуся человеком, с использованием хорошо известных и рутинных протоколов, см., например, Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (ed.), Vol 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, England, 1986). Многие теплокровные животные, такие как кролики, мыши, крысы, овцы, коровы, верблюды или свиньи, могут быть иммунизированы. Тем не менее, мыши, кролики, свиньи и крысы, как правило, являются наиболее подходящими.

Моноклональные антитела могут быть получены любым способом, известным в данной области, таким как метод гибридомы (Kohler & Milstein, 1975, Nature, 256:495-497), метод триомы, метод гибридомы человеческих В-клеток (Kozbor et al., 1983, Immunology Today, 4:72) и метод EBV-гибридомы (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, pp77-96, Alan R Liss, Inc., 1985).

Антитела для использования в настоящем изобретении также могут быть получены методами получения антител из единичных лимфоцитов путем клонирования и экспрессии кДНК вариабельной области иммуноглобулина, полученных из отдельных лимфоцитов, отобранных для продуцирования специфических антител, например, способами, описанными Babcook, J. et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(15):7843-7848; WO92/02551; WO2004/051268 и в международной заявке на патент

WO2004/106377.

Скрининг антител можно проводить с помощью анализов для измерения связывания с человеческим FcRn и/или анализов для измерения способности блокировать связывание IgG с рецептором. Примером анализа связывания является ELISA, в частности, с использованием слитого белка человеческого FcRn с человеческим Fc, который иммобилизован на планшетах, и с использованием вторичного антитела для обнаружения анти-FcRn антитела, связанного со слитым белком. Примеры подходящих антагонистических и блокирующих анализов хорошо известны в данной области и описаны в WO 2014/019727.

Гуманизированные антитела (которые включают CDR-привитые антитела) представляют собой молекулы антител, имеющие одну или более определяющих комплементарность областей (CDR), полученных от вида, не являющегося человеком, и каркасный участок, полученный из молекулы человеческого иммуноглобулина (см., например, US 5585909; WO91/09967). Понятно, что может потребоваться только перенос определяющих специфичность остатков CDR, а не всей CDR (см., например, Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34). Гуманизированные антитела необязательно могут дополнительно содержать один или более остатков каркасного участка, происходящего от вида, не являющегося человеком, от которого были получены CDR. Последние часто называют донорскими остатками.

Термин «специфический», используемый в настоящем описании, обозначает антитело, которое распознает только тот антиген, по отношению к которому оно является специфичным, или антитело, которое обладает значительно более высоким сродством связывания с антигеном, по отношению к которому оно является специфичным, по сравнению со связыванием антигенов, по отношению к которым оно не является неспецифичным, например, имеет по меньшей мере в 5, 6, 7, 8, 9, 10 раз более высокое сродство связывания. Сродство связывания может быть измерено такими методами, как ВІАcore, описанными в настоящей заявке и в WO 2014/019727. В одном из примеров антитело по настоящему изобретению не связывается с  $\beta$ 2-микроглобулином ( $\beta$ 2M). В одном из примеров антитело по настоящему изобретению связывается с FcRn яванского макака. В одном из примеров антитело по настоящему изобретению не связывается с FcRn крысы или мыши.

Аминокислотные последовательности и полинуклеотидные последовательности некоторых антител по настоящему изобретению представлены на чертежах.

Другие антитела, используемые в настоящем изобретении, описаны в WO2009/131702, WO2007/087289, WO2006/118772, WO2015/071330, WO2015/167293 и WO2016/123521 и включены в настоящее описание в качестве ссылки.

В одном из вариантов осуществления антитело или фрагмент по настоящему изобретению является гуманизированным.

В контексте настоящего описания термин «молекула гуманизированного антитела» относится к молекуле антитела, в которой тяжелая и/или легкая цепь содержит одну или

более CDR (включая, при необходимости, одну или более модифицированных CDR) от донорского антитела (например, мышиногo или крысиного моноклонального антитела), привитые на каркасный участок вариabельной области тяжелой и/или легкой цепи акцепторного антитела (например, человеческого антитела). Обзор, см. Vaughan et al., *Nature Biotechnology*, 16, 535-539, 1998. В одном из вариантов осуществления вместо переноса всего CDR в каркасный участок человеческого антитела переносят только один или более определяющих специфичность остатков из любого CDR, описанных выше в настоящей заявке (см., например, Kashmiri et al., 2005, *Methods*, 36, 25-34). В одном из вариантов осуществления в каркасный участок человеческого антитела переносят только определяющие специфичность остатки из одной или более описанных выше в настоящей заявке CDR. В другом варианте осуществления в каркасный участок человеческого антитела переносят только определяющие специфичность остатки из каждой из описанных выше в настоящей заявке CDR.

Для прививки CDR или определяющих специфичность остатков можно использовать любую подходящую акцепторную последовательность каркасного участка вариabельной области с учетом класса/типа донорского антитела, из которого получены CDR, включая каркасные участки мыши, приматов и человека.

Соответственно, гуманизированное антитело по настоящему изобретению имеет вариabельный домен, содержащий человеческие акцепторные каркасные участки, а также одну или более CDR, предоставленных, в частности, в настоящем описании. Таким образом, в одном из вариантов осуществления представлено блокирование гуманизированного антитела, которое связывается с человеческим FcRn, в котором вариabельный домен включает человеческие акцепторные каркасные участки и донорские CDR нечеловеческого происхождения.

Примерами человеческих каркасных участков, которые можно использовать в настоящем изобретении, являются KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY и POM (Kabat et al., см. выше). Например, KOL и NEWM можно использовать для тяжелой цепи, REI можно использовать для легкой цепи, а EU, LAY и POM можно использовать как для тяжелой цепи, так и для легкой цепи. Альтернативно, можно использовать последовательности зародышевой линии человека; они доступны по адресу: <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>.

В гуманизированном антителе по настоящему изобретению акцепторные тяжелая и легкая цепи необязательно должны быть получены из одного и того же антитела и могут, при необходимости, содержать композитные цепи, имеющие каркасные участки, полученные из разных цепей.

Один из таких подходящих каркасных участков для тяжелой цепи гуманизированного антитела по настоящему изобретению получают из последовательности 1-3 3-07 человеческой подгруппы VH3 вместе с JH4 (SEQ ID NO: 56).

Соответственно, в одном из примеров представлено гуманизированное антитело, содержащее последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 1 для CDR-H1,

последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2 для CDR-H2, и последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 3 для CDRH3, где каркасный участок тяжелой цепи получен из последовательности 1-3 3-07 человеческой подгруппы VH3 вместе с JH4.

Последовательность человеческого JH4 является следующей: (YFDY)WGQGTTLVTVS (Seq ID No: 70). Мотив YFDY является частью CDR-H3 и не является частью каркасного участка 4 (Ravetch, JV. Et al., 1981, Cell, 27, 583-591).

В одном из примеров вариабельный домен тяжелой цепи антитела содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 29.

Подходящий каркасный участок для легкой цепи гуманизированного антитела по настоящему изобретению получают из последовательности 2-1-(1)A30 подгруппы VK1 человеческой зародышевой линии вместе с JK2 (SEQ ID NO: 54).

Соответственно, в одном из примеров представлено гуманизированное антитело, содержащее последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 4 для CDR-L1, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 5 для CDR-L2, и последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 6 для CDRL3, где каркасный участок легкой цепи получают из последовательности 2-1-(1)A30 подгруппы VK1 человеческой зародышевой линии вместе с JK2.

Последовательность JK2 является следующей: (YT)FGQGTKLEIK (Seq ID No: 71). Мотив YT является частью CDR-L3 и не является частью каркасного участка 4 (Hieter, PA., Et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 1516-1522).

В одном из примеров вариабельный домен легкой цепи антитела включает последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 15.

В гуманизированном антителе по настоящему изобретению каркасные участки не обязательно должны иметь точно такую же последовательность, как у акцепторного антитела. Например, необычные остатки могут быть заменены более часто встречающимися остатками для этого класса или типа акцепторной цепи. Альтернативно, выбранные остатки в акцепторных каркасных участках могут быть изменены таким образом, чтобы они соответствовали остатку, найденному в том же положении в донорском антителе (см. Reichmann et al., 1998, Nature, 332, 323-324). Такие изменения должны быть сведены к минимуму, необходимому для восстановления сродства донорского антитела. Протокол для выбора остатков в акцепторных каркасных участках, которые, возможно, необходимо будет изменить, приведен в WO91/09967.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления 1, 2, 3, 4 или 5 остатков в каркасном участке заменены альтернативными аминокислотными остатками.

Соответственно, в одном из примеров представлено гуманизированное антитело, в котором по меньшей мере остатки в каждом из положений 3, 24, 76, 93 и 94 вариабельного домена тяжелой цепи (нумерация по Кабат) являются донорскими остатками, см., например, последовательность приведенную в SEQ ID NO: 29.

В одном из вариантов осуществления остаток 3 вариабельного домена тяжелой цепи заменен альтернативной аминокислотой, например глютамином.

В одном из вариантов осуществления остаток 24 вариабельного домена тяжелой цепи заменен альтернативной аминокислотой, например аланином.

В одном из вариантов осуществления остаток 76 вариабельного домена тяжелой цепи заменен альтернативной аминокислотой, например аспарагином.

В одном из вариантов осуществления остаток 93 тяжелой цепи заменен альтернативной аминокислотой, например аланином.

В одном из вариантов осуществления остаток 94 тяжелой цепи заменен альтернативной аминокислотой, например аргинином.

В одном из вариантов осуществления в вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи по настоящему изобретению остаток 3 представляет собой глютамин, остаток 24 представляет собой аланин, остаток 76 представляет собой аспаргин, остаток 93 представляет собой аланин, и остаток 94 представляет собой аргинин.

Соответственно, в одном из примеров представлено гуманизированное антитело, в котором по меньшей мере остатки в каждом из положений 36, 37 и 58 вариабельного домена легкой цепи (нумерация по Кабат) являются донорскими остатками, см., например, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 15.

В одном из вариантов осуществления остаток 36 вариабельного домена легкой цепи заменен альтернативной аминокислотой, например тирозином.

В одном из вариантов осуществления остаток 37 вариабельного домена легкой цепи заменен альтернативной аминокислотой, например глютамином.

В одном из вариантов осуществления остаток 58 вариабельного домена легкой цепи заменен альтернативной аминокислотой, например валином.

В одном из вариантов осуществления в вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи по настоящему изобретению остаток 36 представляет собой тирозин, остаток 37 представляет собой глютамин, и остаток 58 представляет собой валин.

В одном из вариантов осуществления изобретение относится к последовательности антитела, которая на 80% аналогична или идентична последовательности, раскрытой в настоящем описании, например, аналогична или идентична на 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% части или всей релевантной последовательности, например последовательности вариабельного домена, последовательности CDR или последовательности вариабельного домена, исключая CDR. В одном из вариантов осуществления соответствующая последовательность представляет собой SEQ ID NO: 15. В одном из вариантов осуществления соответствующая последовательность представляет собой SEQ ID NO: 29.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к молекуле антитела, которая связывается с человеческим FcRn, содержащей тяжелую цепь, где вариабельный домен тяжелой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности или сходства с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 29.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к молекуле

антитела, которая связывается с человеческим FcRn, содержащей легкую цепь, где переменный домен легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности или сходства с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 15.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к молекуле антитела, которая связывается с человеческим FcRn, где антитело имеет переменный домен тяжелой цепи, который является по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% аналогичным или идентичным последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 29, но при этом молекула антитела имеет последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 1 для CDR-H1, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 2 для CDR-H2, и последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 3 для CDR-H3.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к молекуле антитела, которая связывается с человеческим FcRn, где антитело имеет переменный домен легкой цепи, который является по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% аналогичным или идентичным последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 15, но при этом молекула антитела имеет последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 4 для CDR-L1, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 5 для CDR-L2, и последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 6 для CDR-L3.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к молекуле антитела, которая связывается с человеческим FcRn, где антитело имеет переменный домен тяжелой цепи, который является по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% аналогичным или идентичным последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 29, и переменный домен легкой цепи, который является по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% аналогичным или идентичным последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 15, но при этом молекула антитела имеет последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 1 для CDR-H1, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 2 для CDR-H2, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 3 для CDR-H3, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 4 для CDR-L1, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 5 для CDR-L2, и последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 6 для CDR-L3.

В контексте настоящего описания «идентичность» указывает на то, что в выровненных последовательностях в любом конкретном положении аминокислотные остатки являются идентичными у этих последовательностей. В контексте настоящего описания «сходство» указывает на то, что в выровненных последовательностях в любом конкретном положении аминокислотные остатки имеют схожий тип у этих последовательностей. Например, лейцин может быть заменен изолейцином или валином. Другие аминокислоты, которые часто могут быть заменены одна другой, включают, без ограничения:

- фенилаланин, тирозин и триптофан (аминокислоты, имеющие ароматические боковые цепи);

- лизин, аргинин и гистидин (аминокислоты, имеющие щелочные боковые цепи);
- аспартат и глутамат (аминокислоты, имеющие кислотные боковые цепи);
- аспарагин и глутамин (аминокислоты, имеющие амидные боковые цепи); и
- цистеин и метионин (аминокислоты, имеющие серосодержащие боковые цепи).

Степени идентичности и сходства могут быть легко вычислены (Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991) с помощью программного обеспечения BLAST<sup>TM</sup>, доступного от NCBI (Altschul, S.F. et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W. & States, D.J. 1993, Nature Genet. 3:266-272. Madden, T.L. et al., 1996, Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S.F. et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J. & Madden, T.L. 1997, Genome Res. 7:649-656).

Молекулы антител по настоящему изобретению могут содержать полную молекулу антитела, имеющую полноразмерные тяжелую и легкую цепи, или его фрагмент и могут представлять собой, без ограничения, Fab, модифицированный Fab, Fab', модифицированный Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, однодоменные антитела (например, VH или VL или VHH), scFv, би-, три- или тетравалентные антитела, bis-scFv, диатела, триатела, тетратела и эпитоп-связывающие фрагменты любого из вышеперечисленного (см., например, Holliger and Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9):1126-1136; Adair and Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217). Способы создания и изготовления этих фрагментов антител хорошо известны в данной области (см., например, Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). Другие фрагменты антител для использования в настоящем изобретении включают фрагменты Fab и Fab', описанные в международных заявках на патент WO 2005/003169, WO 2005/003170 и WO 2005/003171. Поливалентные антитела могут иметь несколько специфичностей, например, могут быть биспецифическими или моноспецифическими (см., например, WO 92/22853, WO05/113605, WO2009/040562 и WO2010/035012).

В одном из вариантов осуществления молекула антитела по настоящему изобретению представляет собой Fab'-фрагмент антитела, содержащий переменные области, показанные в SEQ ID NO: 15 и 29, например, для легкой и тяжелой цепей, соответственно. В одном из вариантов осуществления молекула антитела имеет легкую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 22, и тяжелую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 36.

В одном из вариантов осуществления молекула антитела по настоящему изобретению представляет собой полноразмерное антитело IgG1, содержащее переменные области, показанные в SEQ ID NO: 15 и 29, например, для легкой и тяжелой цепей, соответственно. В одном из вариантов осуществления молекула антитела имеет легкую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 22, и тяжелую

цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 72.

В одном из вариантов осуществления молекула антитела по настоящему изобретению представляет собой полноразмерный формат IgG4, содержащий переменные области, показанные в SEQ ID NO: 15 и 29, например, для легкой и тяжелой цепей, соответственно. В одном из вариантов осуществления молекула антитела имеет легкую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 22, и тяжелую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 87.

В одном из вариантов осуществления молекула антитела по настоящему изобретению представляет собой полноразмерный формат IgG4P, содержащий переменные области, показанные в SEQ ID NO: 15 и 29, например, для легкой и тяжелой цепей, соответственно. В одном из вариантов осуществления молекула антитела имеет легкую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 22, и тяжелую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 43.

В контексте настоящего описания IgG4P представляет собой мутацию изотипа IgG4 дикого типа, где аминокислота 241 заменена пролином, см., например, где серин в положении 241 заменен пролином, как описано в Angal et al., *Molecular Immunology*, 1993, 30(1)105-108.

В одном из вариантов осуществления антитело по настоящему изобретению предоставлено в виде слитого белка FcRn-связывающего антитела, который содержит фрагмент иммуноглобулина, например фрагмент Fab или Fab', и одно или два однодоменных антитела (dAb), связанных с ним непосредственно или опосредованно, например, как описано в WO2009/040562, WO2010035012, WO2011/030107, WO2011/061492 и WO2011/086091, которые включены в настоящее описание в качестве ссылки.

В одном из вариантов осуществления слитый белок содержит двухдоменные антитела, например, в виде спаренных переменного домена тяжелой (VH) и переменного домена легкой (VL) цепей, необязательно связанных дисульфидной связью.

В одном из вариантов осуществления элемент Fab или Fab' слитого белка имеет специфичность, такую же или аналогичную специфичности однодоменного антитела или антител. В одном из вариантов осуществления Fab или Fab' имеет специфичность к однодоменному антителу или антителам, другими словами, слитый белок является поливалентным. В одном из вариантов осуществления поливалентный слитый белок по настоящему изобретению имеет альбумин-связывающий участок, например, пара VH/VL этого белка обеспечивает альбумин-связывающий участок. В одном из таких вариантов осуществления тяжелая цепь содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 50, и легкая цепь содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 46 или SEQ ID NO: 78.

В одном из вариантов осуществления Fab или Fab' по настоящему изобретению конъюгирован с молекулой ПЭГ или человеческим сывороточным альбумином.

CA170\_01519g57 и 1519 и 1519.g57 используются в настоящем описании



взаимозаменяемо и относятся к конкретной паре переменных областей антитела, которые могут использоваться в ряде различных форматов. Эти переменные области представляют собой последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 29, и последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 15 (фиг. 1).

Домены константной области молекулы антитела по настоящему изобретению, если они присутствуют, могут быть выбраны с учетом предполагаемой функции молекулы антитела и, в частности, эффекторных функций, которые могут потребоваться. Например, домены константной области могут быть доменами человеческого IgA, IgD, IgE, IgG или IgM. В частности, можно использовать домены константной области человеческого IgG, особенно изотипов IgG1 и IgG3, когда молекула антитела предназначена для терапевтического применения и требуются эффекторные функции антитела. Альтернативно, изотипы IgG2 и IgG4 могут использоваться, когда молекула антитела предназначена для терапевтических целей и эффекторные функции антитела не требуются. Понятно, что также могут использоваться варианты последовательностей этих доменов константной области. Например, могут использоваться молекулы IgG4, в которых серин в положении 241 заменен пролином, как описано в Angal et al., *Molecular Immunology*, 1993, 30 (1), 105-108. Специалисту в данной области также будет понятно, что антитела могут подвергаться различным пост-трансляционным модификациям. Тип и степень этих модификаций часто зависят от линии клеток-хозяев, используемых для экспрессии антитела, а также от условий культивирования. Такие модификации могут включать варианты гликозилирования, окисления метионина, образования дикетопиперазина, изомеризации аспартата и дезамидирования аспарагина. Частой модификацией является потеря карбокси-концевого щелочного остатка (такого как лизин или аргинин) в результате воздействия карбоксипептидаз (как описано в Harris, RJ. *Journal of Chromatography* 705:129-134, 1995). Соответственно, С-терминальный лизин тяжелой цепи антитела может отсутствовать.

В одном из вариантов осуществления тяжелая цепь антитела содержит домен CH1, а легкая цепь антитела содержит домен CL, либо каппа, либо лямбда.

В одном из вариантов осуществления легкая цепь имеет последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 22, а тяжелая цепь имеет последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 43.

В одном из вариантов осуществления легкая цепь имеет последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 22, а тяжелая цепь имеет последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 72.

В одном из вариантов осуществления во время пост-трансляционных модификаций в молекуле антитела отщепляется С-концевая аминокислота.

В одном из вариантов осуществления во время пост-трансляционных модификаций в молекуле антитела отщепляется N-концевая аминокислота.

Настоящее изобретение также относится к специфической области или эпитопу человеческого FcRn, который связывается с антителом, представленным в настоящем

изобретении, в частности антителом, содержащим последовательность тяжелой цепи gH20 (SEQ ID NO: 29) и/или последовательность легкой цепи gL20 (SEQ ID NO: 15).

Эта специфическая область или эпитоп человеческого полипептида FcRn может быть идентифицирован любым подходящим способом картирования эпитопа, известным в данной области, в комбинации с любым из антител, представленных в настоящем изобретении. Примеры таких способов включают скрининг пептидов различной длины, полученных из FcRn на связывание с антителом по настоящему изобретению с наименьшим фрагментом, который может специфически связываться с антителом, содержащим последовательность эпитопа, распознаваемого антителом. Пептиды FcRn могут быть получены синтетически или путем протеолитического расщепления полипептида FcRn. Пептиды, которые связываются с антителом, могут быть идентифицированы, например, с помощью масс-спектрометрического анализа. В другом примере для идентификации эпитопа, связанного с антителом по настоящему изобретению, могут быть использованы ЯМР-спектроскопия или рентгеновская кристаллография. После идентификации фрагмент эпитопа, который связывается с антителом по настоящему изобретению при необходимости можно использовать в качестве иммуногена для получения дополнительных антител, которые связываются с тем же эпитопом.

В одном из вариантов осуществления антитело по настоящему изобретению связывается с представленной ниже внеклеточной последовательностью альфа-цепи человеческого FcRn:

AESHLSELLYH LTAVSSPAPG TPAFWVSGWL GPQQYLSYNS LRGEAEPCGA  
WVWENQVSWY WEKETTDLRI KEKLFLEAFK ALGGKGPYTL QGLLGCELGP  
DNTSVPTAKF ALNGEEEFMNF **DLKQGTWGGD** **WPEALAISQR** WQQQDKAANK  
ELTFLFSCP HRLREHLERG RGNLEWKEPP SMRLKARPSS PGFSVLTCSA  
FSFYPPQL RFLRNGLAAG TGQGDFGPNS DGSFHASSSL TVKSGDENHY  
CCIVQHAGLA QPLRVELESPAKSS (SEQ ID NO: 94).

Подчеркнутые остатки представляют собой остатки, которые, как известно, являются критическими для взаимодействия человеческого FcRn с Fc-областью человеческого IgG, а остатки, выделенные жирным шрифтом, являются остатками, которые участвуют во взаимодействии FcRn с антителом 1519 по настоящему изобретению, содержащим последовательность тяжелой цепи gH20 (SEQ ID NO: 29) и последовательность легкой цепи gL20 (SEQ ID NO: 15).

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из остатков V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO: 94, и по меньшей мере один остаток, например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков, выбранных из группы, состоящей из P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 и E133 SEQ ID NO: 94.

В одном из примеров эпитоп молекулы антитела определяют с помощью рентгеновской кристаллографии с использованием внеклеточной последовательности альфа-цепи FcRn (SEQ ID NO: 94) в комплексе с  $\beta$ 2M.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит по меньшей мере одну аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из остатков V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO:94, и по меньшей мере один остаток, например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков, выбранных из группы, состоящей из E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123 и Q124 SEQ ID NO:94.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит по меньшей мере две, три, четыре или пять аминокислот, выбранных из группы, состоящей из остатков V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO:94, и по меньшей мере один остаток, выбранный из группы, состоящей из E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123 и Q124 SEQ ID NO:94.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит по меньшей мере одну аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из остатков V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO:94, и по меньшей мере один остаток, выбранный из группы, состоящей из P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 и E133 SEQ ID NO:94.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит по меньшей мере одну аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из остатков V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO:94, и по меньшей мере один остаток, выбранный из группы, состоящей из P100, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124 и G128 SEQ ID NO:94.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит остатки V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO:94 и по меньшей мере один остаток, выбранный из группы, состоящей из P100, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124 и G128 SEQ ID NO:94.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит остатки V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO:94 и по меньшей мере один остаток, выбранный из группы, состоящей из P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 и E133 SEQ ID NO:94.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит остатки P100, V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO:94 и по меньшей мере один остаток,

выбранный из группы состоящей из E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 и E133 SEQ ID NO:94.

В одном из примеров «по меньшей мере один остаток» может представлять собой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 остатков.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит или состоит из остатков 100, 105-109, 115-124 и 129-133 SEQ ID NO: 94.

Антитела, которые перекрестно блокируют связывание молекулы антитела по настоящему изобретению, в частности, молекулы антитела, содержащей последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 29, и последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 15, могут использоваться аналогичным образом для блокирования активности FcRn. Соответственно, настоящее изобретение также относится к молекуле анти-FcRn антитела, которая перекрестно блокирует связывание любой из описанных выше молекул антител с человеческим FcRn и/или которая перекрестно блокирует связывание человеческого FcRn с любым из этих антител. В одном из вариантов осуществления такое антитело связывается с тем же эпитопом, что и описанное выше антитело. В другом варианте осуществления перекрестно блокирующее нейтрализующее антитело связывается с эпитопом, который граничит и/или перекрывается эпитопом, связанным с описанным выше антителом.

Перекрестно блокирующие антитела могут быть идентифицированы любым подходящим способом, известным в данной области, например, с помощью конкурентных анализов ELISA или BIAcore, в которых связывание перекрестно-блокирующего антитела с человеческим FcRn предотвращает связывание антитела по настоящему изобретению или наоборот. В таких анализах перекрестного блокирования может использоваться выделенный природный или рекомбинантный FcRn или подходящий слитый белок/полипептид. В одном из примеров связывание и перекрестное блокирование измеряют с использованием внеклеточного домена рекомбинантного человеческого FcRn (SEQ ID NO: 94). В одном из примеров внеклеточный домен альфа-цепи рекомбинантного человеческого FcRn используется в комплексе с  $\beta$ 2-микроглобулином ( $\beta$ 2M) (SEQ ID NO: 95).

В одном из вариантов осуществления предложена молекула анти-FcRn антитела, которая блокирует связывание FcRn с IgG и которая перекрестно блокирует связывание антитела, тяжелая цепь которого содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 29 и легкая цепь которого содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 15, с человеческим FcRn. В одном из вариантов осуществления перекрестно блокирующие антитела, представленные в настоящем изобретении, ингибируют связывание антитела, содержащего последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 29, и последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 15, более чем на 80%, например более чем на 85%, например более чем на 90%, в частности, более чем на 95%.

Альтернативно или в дополнение, анти-FcRn антитела согласно этому аспекту

изобретения могут быть перекрестно заблокированы в отношении связывания с человеческим FcRn антителом, содержащим последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 29, и последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 15. Также предоставлена молекула анти-FcRn антитела, которая блокирует связывание FcRn с IgG и которая является перекрестно блокируемой в отношении связывания человеческого FcRn с антителом, содержащим последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 29, и последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 15. В одном из вариантов осуществления связывание анти-FcRn антител, предусмотренных этим аспектом изобретения, с человеческим FcRn ингибируется антителом, содержащим последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 29, и последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 15, больше чем на 80%, например больше чем на 85%, например больше чем на 90%, в частности больше чем на 95%.

В одном из вариантов осуществления перекрестно блокирующие антитела, представленные в настоящем изобретении, являются полностью человеческими. В одном из вариантов осуществления перекрестно блокирующие антитела, представленные в настоящем изобретении, являются гуманизированными. В одном из вариантов осуществления перекрестно блокирующие антитела, представленные в настоящем изобретении, имеют сродство к человеческому FcRn, равное 100 пМ или менее. В одном из вариантов осуществления перекрестно блокирующие антитела, представленные в настоящем изобретении, имеют сродство к человеческому FcRn, равное 50 пМ или менее. Сродство может быть измерено методами, описанными в настоящей заявке ниже.

Биологические молекулы, такие как антитела или фрагменты, содержат кислотные и/или щелочные функциональные группы, придавая молекуле суммарный положительный или отрицательный заряд. Количество общего «наблюдаемого» заряда будет зависеть от абсолютной аминокислотной последовательности структуры, локального окружения заряженных групп в трехмерной структуре и условий окружающей среды молекулы. Изоэлектрическая точка (pI) представляет собой pH, при котором конкретная молекула или ее поверхность в доступном растворителе не несет суммарного электрического заряда. В одном из примеров анти-FcRn антитело и фрагменты по изобретению могут быть сконструированы таким образом, чтобы они имели подходящую изоэлектрическую точку. Это может обеспечить антитела и/или фрагменты с более устойчивыми свойствами, в частности подходящими профилями растворимости и/или стабильности и/или улучшенными характеристиками очистки.

Таким образом, в одном из аспектов изобретение относится к гуманизированному анти-FcRn антителу, сконструированному таким образом, чтобы оно имело изоэлектрическую точку, отличающуюся от точки первоначально идентифицированного антитела. Антитело может быть сконструировано, например, путем замены аминокислотного остатка, например путем замены кислотного аминокислотного остатка одним или более щелочными аминокислотными остатками. Альтернативно, могут быть

введены щелочные аминокислотные остатки или могут быть удалены кислотные аминокислотные остатки. Альтернативно, если молекула имеет неприемлемо высокое значение pI, то для снижения pI, при необходимости, могут быть введены кислотные остатки. Важно отметить, что в случае манипуляций с pI необходимо соблюдать осторожность для сохранения требуемой активности антитела или фрагмента. Таким образом, в одном из вариантов осуществления сконструированное антитело или его фрагмент имеет такую же или по существу такую же активность, что и «немодифицированное» антитело или его фрагмент.

Для прогнозирования изоэлектрической точки антитела или фрагмента можно использовать такие программы, как \*\*ExPASy [http://www.expasy.ch/tools/pi\\_tool.html](http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html) и [http://www.iut-arles.univ-mrs.fr/w3bb/d\\_abim/compo-p.html](http://www.iut-arles.univ-mrs.fr/w3bb/d_abim/compo-p.html).

Молекулы антител по настоящему изобретению соответственно имеют высокое сродство связывания, в частности, в наномолярном диапазоне. Сродство может быть измерено любым подходящим методом, известным в данной области, включая BIAcore, как описано в примерах, приведенных в настоящем описании, с использованием выделенного природного или рекомбинантного FcRn или подходящего гибридного белка/полипептида. В одном из примеров сродство измеряют с использованием рекомбинантного внеклеточного домена человеческого FcRn, как описано в приведенных в настоящем описании примерах (SEQ ID NO: 94) и в WO 2014/019727. В одном из примеров сродство измеряют с использованием внеклеточного домена альфа-цепи рекомбинантного человеческого FcRn (SEQ ID NO: 94) в ассоциации с  $\beta$ 2-микроглобулином ( $\beta$ 2M) (SEQ ID NO: 95). Соответственно, молекулы антител по настоящему изобретению имеют сродство связывания с выделенным человеческим FcRn, равным примерно 1 нМ или менее. В одном из вариантов осуществления молекула антитела по настоящему изобретению имеет сродство связывания, равное примерно 500 пМ или менее (т.е. более высокое сродство). В одном из вариантов осуществления молекула антитела по настоящему изобретению имеет сродство связывания, равное примерно 250 пМ или менее. В одном из вариантов осуществления молекула антитела по настоящему изобретению имеет сродство связывания, равное примерно 200 пМ или менее. В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к анти-FcRn антителу, имеющему сродство связывания, равное примерно 100 пМ или менее. В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к гуманизированному анти-FcRn антителу, имеющему сродство связывания, равное примерно 100 пМ или менее. В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к анти-FcRn антителу, имеющему сродство связывания, равное 50 пМ или менее.

Важно отметить, что антитела по настоящему изобретению способны связываться с человеческим FcRn как при pH 6, так и при pH 7,4 с сопоставимым сродством связывания. Следовательно, преимуществом является то, что антитела сохраняют способность связываться с FcRn даже внутри эндосомы, тем самым обеспечивая максимальное

блокирование связывания FcRn с IgG.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к анти-FcRn антителу, имеющему сродство связывания, равное 100 пМ или менее, измеренное при pH 6 и pH 7,4. В одном из вариантов осуществления антитело, используемое по изобретению, представляет собой анти-FcRn антитело, имеющее сродство связывания, равное 50 пМ или менее, измеренное при pH 6 и pH 7,4.

Сродство антитела или связывающего фрагмента по настоящему изобретению, а также степень, с которой связывающий агент (такой как антитело) ингибирует связывание, может быть определено обычным специалистом в данной области с помощью обычных методов, например, описанных Scatchard et al. (*Ann. NY. Acad. Sci.* 51:660-672 (1949)), или с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с использованием таких систем, как BIAcore. Для поверхностного плазмонного резонанса молекулы-мишени иммобилизуют на твердой фазе и подвергают воздействию лигандов в подвижной фазе, протекающей вдоль проточной ячейки. Если происходит связывание лиганда с иммобилизованной мишенью, локальный показатель преломления изменяется, что приводит к изменению угла SPR, которое можно отслеживать в реальном времени путем детектирования изменений интенсивности отраженного света. Скорости изменения сигнала SPR можно проанализировать, чтобы получить кажущиеся константы скорости для фаз ассоциации и диссоциации реакции связывания. Отношение этих значений дает кажущуюся константу равновесия (сродство) (см., например, Wolff et al., *Cancer Res.* 53:2560-65 (1993)).

В настоящем изобретении сродство молекулы тестируемого антитела обычно определяют с помощью SPR следующим образом. Молекулу тестируемого антитела иммобилизуют на твердой фазе, и через иммобилизованное антитело в подвижной фазе пропускают внеклеточный домен альфа-цепи человеческого FcRn в нековалентном комплексе с  $\beta$ 2M, и определяют сродство молекулы тестируемого антитела к человеческому FcRn. Молекула тестируемого антитела может быть иммобилизована на поверхности твердофазного чипа с помощью любого подходящего метода, например, с использованием агента захвата, специфического по отношению к анти-Fc или анти-Fab'. В одном из примеров сродство определяют при pH 6. В одном из примеров сродство определяют при pH 7,4.

Понятно, что сродство антител по настоящему изобретению может быть изменено любым подходящим способом, известным в данной области. Следовательно, настоящее изобретение также относится к вариантам молекул антител по настоящему изобретению, которые обладают улучшенным сродством к FcRn. Такие варианты могут быть получены с помощью ряда протоколов созревания сродства, включая мутирование CDR (Yang et al., *J. Mol. Biol.*, 254, 392-403, 1995), перестановку цепей (Marks et al., *Bio/Technology*, 10, 779-783, 1992), использование мутаторных штаммов E.coli (Low et al., *J. Mol. Biol.*, 250, 359-368, 1996), перестановку в ДНК (Patten et al., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8, 724-733, 1997), фаговый дисплей (Thompson et al., *J. Mol. Biol.*, 256, 77-88, 1996) и ПЦР с имитацией

полового размножения (Cramer et al., Nature, 391, 288-291, 1998). Обсуждение этих методов созревания сродства представлено у Vaughan et al. (см. выше).

В одном из вариантов осуществления молекулы антител по настоящему изобретению блокируют активность человеческого FcRn. Анализы, подходящие для определения способности антитела блокировать FcRn, описаны в WO 2014/019727. Подходящие анализы для определения, блокируют ли антитела взаимодействие FcRn с молекулами IgG в кровотоке, также описаны в WO 2014/019727 наряду с подходящим анализом определения способности молекулы антитела блокировать рециркуляцию IgG *in vitro*.

При необходимости, антителo, используемое в настоящем изобретении, может быть конъюгировано с одной или более эффекторными молекулами. Понятно, что эффекторная молекула может содержать одну эффекторную молекулу или две или более таких молекул, связанных таким образом, что они образуют единый фрагмент, который может быть присоединен к антителам по настоящему изобретению. Если необходимо получить фрагмент антитела, связанный с эффекторной молекулой, его можно получить с помощью стандартных химических процедур или процедур с рекомбинантными ДНК, в которых фрагмент антитела связывают либо непосредственно, либо через связывающий агент с эффекторной молекулой. Способы конъюгирования таких эффекторных молекул с антителами хорошо известны в данной области (см. Hellstrom et al., *Controlled Drug Delivery*, 2nd Ed., Robinson et al., Eds., 1987, pp. 623-53; Thorpe et al., 1982, *Immunol. Rev.*, 62:119-58 и Dubowchik et al., 1999, *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 67-123). Конкретные химические процедуры включают, например, процедуры, описанные в WO 93/06231, WO 92/22583, WO 89/00195, WO 89/01476 и WO 03/031581. Альтернативно, когда эффекторная молекула представляет собой белок или полипептид, связывание может быть достигнуто с помощью процедур с рекомбинантными ДНК, например, описанными в WO 86/01533 и EP0392745.

В контексте настоящего описания термин эффекторная молекула включает, например, противоопухолевые агенты, лекарственные вещества, токсины, биологически активные белки, например ферменты, другие антитела или фрагменты антител, синтетические или встречающиеся в природе полимеры, нуклеиновые кислоты и их фрагменты, например, ДНК, РНК и их фрагменты, радионуклиды, в частности, радиоактивный йод, радиоизотопы, хелатные металлы, наночастицы и репортерные группы, такие как флуоресцентные соединения или соединения, которые могут быть обнаружены с помощью ЯМР или ESR-спектроскопии.

Примеры эффекторных молекул могут включать цитотоксины или цитотоксические агенты, включая любой агент, который является вредным (например, убивает) для клетки. Примеры включают комбрестатины, доластатины, эпотилоны, стауроспорин, майтансиноиды, спонгистатины, ризоксин, галихондрины, роридины, гемиастерлины, таксол, цитохалазин В, грамицидин D, этидия бромид, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин,



даунорубицин, дигидроксиантрациндион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дигидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пурамицин и их аналоги или гомологи.

Эффекторные молекулы также включают, без ограничения, антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацила декарбазин), алкилирующие агенты (например, мехлорэтамин, тиозпа хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU) и ломустин (CCNU), циклофосфамид, бусульфамид, дибромоманнитол, стрептозотоцин, митомицин C и цис-дихлор-диамин платины (II) (DDP), цисплатин), антрациклины (например, даунорубицин (ранее дауномицин) и доксорубицин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее актиномицин), блеомицин, митрамицин, антрамицин (AMC), калихеамицины или дуокармицины) и антимитотические агенты (например, винкристин и винбластин).

Другие эффекторные молекулы могут включать хелатные радионуклиды, такие как  $^{111}\text{In}$  и  $^{90}\text{Y}$ ,  $\text{Lu}^{177}$ , висмут $^{213}$ , калифорний $^{252}$ , иридий $^{192}$  и вольфрам $^{188}$ /рений $^{188}$ , или лекарственные вещества, такие как, без ограничения, алкилфосфохолины, ингибиторы топоизомеразы I, таксоиды и сурамин.

Другие эффекторные молекулы включают белки, пептиды и ферменты. Представляющие интерес ферменты включают, без ограничения, протеолитические ферменты, гидролазы, лиазы, изомеразы, трансферазы. Представляющие интерес белки, полипептиды и пептиды включают, без ограничения, иммуноглобулины, токсины, такие как абрин, рицин A, экзотоксин *pseudomonas* или дифтерийный токсин, белок, такой как инсулин, фактор некроза опухолей,  $\alpha$ -интерферон,  $\beta$ -интерферон, фактор роста нервов, тромбоцитарный фактор роста или тканевой активатор плазминогена, тромботический агент или антиангиогенный агент, например ангиостатин или эндостатин, или модификатор биологического ответа, такой как лимфокин, интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-2 (IL-2), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), фактор роста нервов (NGF) или другой фактор роста и иммуноглобулины.

Другие эффекторные молекулы могут включать детектируемые вещества, полезные, например, для диагностики. Примеры детектируемых веществ включают различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы, радиоактивные нуклиды, испускающие позитроны металлы (для использования в позитронно-эмиссионной томографии) и нерадиоактивные ионы парамагнитных металлов. См. патент США № 4741900, касающийся ионов металлов, которые могут быть конъюгированы с антителами для использования в качестве диагностируемых агентов. Подходящие ферменты включают пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, бета-галактозидазу или ацетилхолинэстеразу; подходящие простетические группы включают стрептавидин, авидин и биотин; подходящие флуоресцентные материалы включают умбеллиферон, флуоресцеин, изотиоцианат флуоресцеина, родамин, дихлортриазиниламин

флуоресцеина, дансилхлорид и фикоэритрин; подходящие люминесцентные материалы включают люминол; подходящие биолюминесцентные материалы включают люциферазу, люциферин и экворин; и подходящие радиоактивные нуклиды включают  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{111}\text{In}$  и  $^{99}\text{Tc}$ .

В другом примере эффекторная молекула может увеличивать период полувыведения антитела *in vivo* и/или уменьшать иммуногенность антитела и/или улучшать доставку антитела через эпителиальный барьер к иммунной системе. Примеры подходящих эффекторных молекул этого типа включают полимеры, альбумин, альбумин-связывающие белки или альбумин-связывающие соединения, такие как соединения, описанные в WO 05/117984.

В одном из вариантов осуществления предпочтительным является период полувыведения, обеспечиваемый эффекторной молекулой, которая не зависит от FcRn.

Когда эффекторная молекула представляет собой полимер, она, как правило, может быть синтетическим или встречающимся в природе полимером, например необязательно замещенным полиалкиленовым, полиалкениленовым или полиоксиалкиленовым полимером с прямой или разветвленной цепью или разветвленным или неразветвленным полисахаридом, например, гомо- или гетерополисахаридом.

Конкретные необязательные заместители, которые могут присутствовать в вышеупомянутых синтетических полимерах, включают одну или более гидроксильные, метильные или метокси-группы.

Конкретные примеры синтетических полимеров включают необязательно замещенный поли(этиленгликоль), поли(пропиленгликоль), поли(виниловый спирт) с прямой или разветвленной цепью или их производные, особенно необязательно замещенный поли(этиленгликоль), такой как метоксиполи(этиленгликоль), или их производные.

Конкретные встречающиеся в природе полимеры включают лактозу, амилозу, декстран, гликоген или их производные.

В одном из вариантов осуществления полимер представляет собой альбумин или его фрагмент, такой как человеческий сывороточный альбумин или его фрагмент.

Предполагается, что «производные» в контексте настоящего описания включают реакционноспособные производные, например, тиол-селективные реакционноспособные группы, такие как малеимиды и т.п. Реакционноспособная группа может быть связана с полимером напрямую или через линкерный сегмент. Понятно, что остаток такой группы в некоторых случаях образует часть продукта в виде связующей группы между фрагментом антитела и полимером.

Размер полимера можно при необходимости изменять, но обычно он находится в диапазоне средней молекулярной массы от 500 Да до 50000 Да, например от 5000 до 40000 Да, например от 20000 до 40000 Да. Размер полимера, в частности, может быть выбран с учетом предполагаемого использования продукта, например, способности локализоваться в определенных тканях, таких как опухоли, или увеличивать период

полувыведения из кровотока (обзор см. в Chapman, 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 531-545). Таким образом, например, когда продукт предназначен для выведения из кровообращения и проникновения в ткани, например, для использования при лечении опухоли, может оказаться выгодным использование полимера с небольшой молекулярной массой, например, с молекулярной массой примерно 5000 Да. Для применений, где продукт остается в кровотоке, может оказаться выгодным использование полимера с более высокой молекулярной массой, например, молекулярной массой в диапазоне от 20000 Да до 40000 Да.

Подходящие полимеры включают полиалкиленовый полимер, такой как поли(этиленгликоль) или, особенно, метоксиполи(этиленгликоль) или его производное, и особенно с молекулярной массой в диапазоне от примерно 15000 Да до примерно 40000 Да.

В одном из примеров антитела, используемые в настоящем изобретении, присоединяют к фрагментам поли(этиленгликоля) (ПЭГ). В одном конкретном примере антитело представляет собой фрагмент антитела, и молекулы ПЭГ могут быть присоединены через любую доступную аминокислотную боковую цепь или концевую аминокислотную функциональную группу, расположенную на фрагменте антитела, например любую свободную амино, имино, тиоловую, гидроксильную или карбоксильную группу. Такие аминокислоты могут встречаться в природе во фрагменте антитела или могут быть встроены во фрагмент с помощью методов рекомбинантной ДНК (см., например, US 5,219,996; US 5667425; WO98/25971, WO2008/038024). В одном из примеров молекула антитела по настоящему изобретению представляет собой модифицированный Fab-фрагмент, где модификация представляет собой добавление к С-концу его тяжелой цепи одной или более аминокислот для обеспечения возможности присоединения эффекторной молекулы. Соответственно, дополнительные аминокислоты образуют модифицированную шарнирную область, содержащую один или более остатков цистеина, к которым может быть присоединена эффекторная молекула. Для присоединения двух или более молекул ПЭГ могут быть использованы несколько участков.

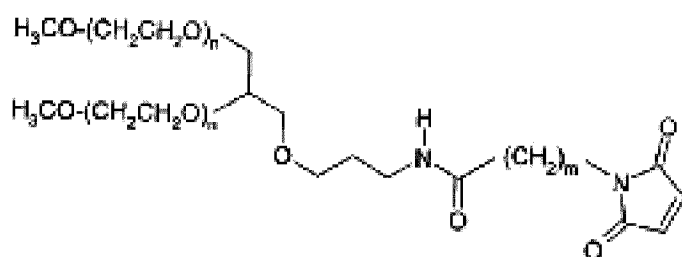
Соответственно, молекулы ПЭГ ковалентно связывают через тиоловую группу по меньшей мере одного остатка цистеина, расположенного во фрагменте антитела. Каждая молекула полимера, присоединенная к модифицированному фрагменту антитела, может быть ковалентно связана с атомом серы остатка цистеина, расположенного в этом фрагменте. Ковалентная связь обычно представляет собой дисульфидную связь или, в частности, сероуглеродную связь. Когда в качестве точки прикрепления используют тиольную группу, могут быть использованы соответствующим образом активированные эффекторные молекулы, например, могут быть использованы производные, селективные по отношению к тиолу, такие как малеимиды и производные цистеина. Активированный полимер можно использовать в качестве исходного материала при получении фрагментов антител, модифицированных полимером, как описано выше. Активированный полимер

может быть любым полимером, содержащим группу, реакционноспособную по отношению к тиолу, такую как  $\alpha$ -галогенкарбоновая кислота или сложный эфир, например, йодацетамид, имид, например малеимид, винилсульфон или дисульфид. Такие исходные материалы являются коммерчески доступными (например, от компании Nektar, ранее известной как Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, USA) или могут быть получены из коммерчески доступных исходных материалов с помощью обычных химических процедур. Конкретные молекулы ПЭГ включают 20К метокси-ПЭГ-амин (поставляемый компанией Nektar, ранее известной как Shearwater; Rapp Polymere; и компанией SunBio) и M-PEG-SPA (поставляемый компанией Nektar, ранее известной как Shearwater).

В одном из вариантов осуществления антитело представляет собой модифицированный Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент или диFab, который ПЭГилирован, т.е. имеет ковалентно связанный с ним ПЭГ (поли(этиленгликоль)), например, в соответствии со способом, раскрытым в EP 0948544 или EP1090037 [см. также «Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications», 1992, J. Milton Harris (ed), Plenum Press, New York, «Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications», 1997, J. Milton Harris and S. Zalipsky (eds), American Chemical Society, Washington DC and «Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences», 1998, M. Aslam and A. Dent, Grove Publishers, New York; Chapman, A. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54:531-545]. В одном из примеров ПЭГ присоединен к цистеину в шарнирной области. В одном из примеров Fab-фрагмент, модифицированный ПЭГ, имеет малеимидную группу, ковалентно связанную с одной тиольной группой в модифицированной шарнирной области. Остаток лизина может быть ковалентно связан с малеимидной группой, и к каждой из аминогрупп на остатке лизина может быть присоединен метоксиполи(этиленгликольный) полимер с молекулярной массой примерно 20000 Да. Таким образом, общая молекулярная масса ПЭГ, присоединенного к Fab-фрагменту, может составлять примерно 40000 Да.

Конкретные молекулы ПЭГ включают 2-[3-(N-малеимидо)пропионамидо]этиламин N, N'-бис(метоксиполи(этиленгликоля) ММ 20000), модифицированный лизином, также известный как PEG2MAL40K (доступный от Nektar, ранее Shearwater).

Альтернативные источники ПЭГ-линкеров включают NOF, которыйставляет GL2-400MA3 (где m в приведенной ниже структуре равен 5) и GL2-400MA (где m равен 2) и n равен приблизительно 450:

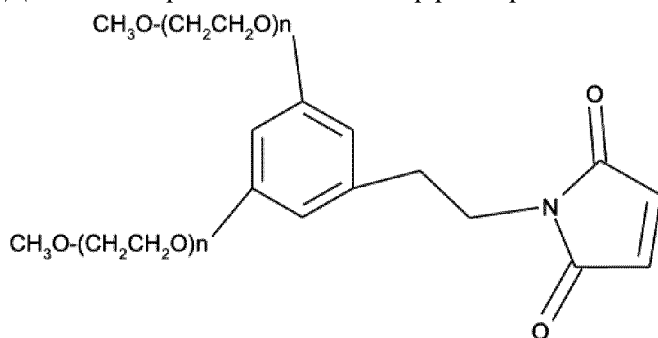


m равен 2 или 5

Иными словами, каждый ПЭГ имеет размер, равный примерно 20000 Да.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения ПЭГ представляет собой 2,3-бис(метилполиоксиэтилен-окси)-1-{[3-(6-малеимидо-1-оксогексил)амино]пропилокси}гексан(состоящий из двух ветвей разветвленный ПЭГ, -CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-MAL, ММ 40000, известный как SUNBRIGHT GL2-400MA3.

Далее альтернативные ПЭГ-эффекторные молекулы следующего типа:



можно приобрести у Dr Reddy, NOF and Jenkem.

В одном из вариантов осуществления предложено антитело, которое является ПЭГилированным (например, с помощью описанного в настоящей заявке ПЭГ), присоединенным через аминокислотный остаток цистеина к аминокислоте 226 или рядом с ней в цепи, например к аминокислоте 226 тяжелой цепи (последовательная нумерация), например аминокислоте 226 в SEQ ID NO: 36.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к молекуле Fab'ПЭГ, содержащей один или более полимеров ПЭГ, например 1 или 2 полимера, таких как полимер или полимеры размером 40 кДа.

В одном из вариантов осуществления предложен Fab', конъюгированный с полимером, таким как молекула ПЭГ, молекула крахмала или молекула альбумина.

В одном из вариантов осуществления предложен scFv, конъюгированный с полимером, таким как молекула ПЭГ, молекула крахмала или молекула альбумина.

В одном из вариантов осуществления антитело или фрагмент конъюгированы с молекулой крахмала, например, для увеличения периода полувыведения. Способы конъюгирования крахмала с белком описаны в патенте США № 801739, включенном в настоящее описание в качестве ссылки.

В одном из вариантов осуществления предложена анти-FcRn-связывающая молекула, которая:

вызывает 70% уменьшение концентрации IgG в плазме,  
с уменьшением концентрации альбумина в плазме не более чем на 20% и/или  
с возможностью повторного дозирования для достижения длительного поддержания низкой концентрации IgG в плазме.

Настоящее изобретение также относится к выделенной последовательности ДНК, кодирующей тяжелую и/или легкую цепь(и) молекулы антитела по настоящему изобретению. Соответственно, последовательность ДНК кодирует тяжелую или легкую

цепь молекулы антитела по настоящему изобретению. Последовательность ДНК по настоящему изобретению может содержать синтетическую ДНК, например, полученную путем химической обработки, кДНК, геномную ДНК или любую их комбинацию.

Последовательности ДНК, которые кодируют молекулу антитела по настоящему изобретению, могут быть получены способами, хорошо известными специалистам в данной области. Например, последовательности ДНК, кодирующие часть или все тяжелые и легкие цепи антитела, могут быть синтезированы по желанию из определенных последовательностей ДНК или на основе соответствующих аминокислотных последовательностей.

ДНК, кодирующая акцепторные каркасные последовательности, является доступной специалистам в данной области и может быть легко синтезирована на основе их известных аминокислотных последовательностей.

Для получения последовательностей ДНК, кодирующих молекулу антитела по настоящему изобретению, могут быть использованы стандартные методы молекулярной биологии. Требуемые последовательности ДНК могут быть синтезированы полностью или частично с помощью методов синтеза олигонуклеотидов. При необходимости можно использовать методы сайт-направленного мутагенеза и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В настоящем описании представлены примеры подходящих последовательностей ДНК.

Примеры подходящих последовательностей ДНК, кодирующих переменную область легкой цепи 1519, представлены в SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 90. Примеры подходящих последовательностей ДНК, кодирующих переменную область тяжелой цепи 1519, представлены в SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 92.

Примеры подходящих последовательностей ДНК, кодирующих легкую цепь 1519 (переменные и константные области), представлены в SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 75 и SEQ ID NO: 91.

Примеры подходящих последовательностей ДНК, кодирующих тяжелую цепь 1519 (переменные и константные области, в зависимости от формата), представлены в SEQ ID NO: 37, 38 и 76 (Fab'), SEQ ID NO: 72 или 85 (IgG1), SEQ ID NO: 44 или 93 (IgG4P) и SEQ ID: 88 (IgG4).

Соответственно, в одном из примеров настоящее изобретение относится к выделенной последовательности ДНК, кодирующей тяжелую цепь Fab'-фрагмента антитела по настоящему изобретению, которая содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 37. Также предоставлена выделенная последовательность ДНК, кодирующая легкую цепь Fab'-фрагмента антитела по настоящему изобретению, которая содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 23.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к выделенной последовательности ДНК, кодирующей тяжелую цепь и легкую цепь антитела IgG4(P) по настоящему изобретению, где ДНК, кодирующая тяжелую цепь, содержит

последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 44 или SEQ ID NO: 93, и ДНК, кодирующая легкую цепь, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 75 или SEQ ID NO: 91.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к выделенной последовательности ДНК, кодирующей тяжелую цепь и легкую цепь антитела Fab-dsFv по настоящему изобретению, в которой ДНК, кодирующая тяжелую цепь, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 80, и ДНК, кодирующая легкую цепь, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 47 или SEQ ID NO: 79.

Настоящее изобретение также относится к вектору клонирования или экспрессии, содержащему одну или более последовательностей ДНК по настоящему изобретению. Соответственно, предложен вектор клонирования или экспрессии, содержащий одну или более последовательностей ДНК, кодирующих антитело по настоящему изобретению. Соответственно, вектор клонирования или экспрессии содержит две последовательности ДНК, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь молекулы антитела по настоящему изобретению, соответственно, и подходящие сигнальные последовательности. В одном из примеров вектор содержит межгенную последовательность, расположенную между тяжелой и легкой цепями (см. WO 03/048208).

Общие способы, с помощью которых могут быть сконструированы векторы, способы трансфекции и способы культивирования, хорошо известны специалистам в данной области. В этой связи приведена ссылка на «Current Protocols in Molecular Biology», 1999, F.M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, New York and the Maniatis Manual produced by Cold Spring Harbor Publishing.

Также предложена клетка-хозяин, содержащая один или более векторов клонирования или экспрессии, содержащих одну или более последовательностей ДНК, кодирующих антитело по настоящему изобретению. Для экспрессии последовательностей ДНК, кодирующих молекулу антитела по настоящему изобретению, может быть использована любая подходящая система клетка-хозяин/вектор. Могут быть использованы бактериальные, например, *E.coli*, и другие микробные системы, или могут быть использованы эукариотические, например млекопитающих, системы экспрессии клеток-хозяев. Подходящие клетки-хозяева млекопитающих включают клетки CHO, миеломы или гибридомы.

Подходящие типы клеток яичников китайского хомячка (клетки CHO), используемые в настоящем изобретении, могут включать клетки CHO и CHO-K1, включая клетки dhfr-CHO, такие как клетки CHO-DG44 и клетки CHO-DXB11, которые также можно использовать с DHFR-селектируемым маркером, или клетки CHOK1-SV, которые можно использовать с глутаминсинтетазным селектируемым маркером. Другие типы клеток, используемые для экспрессии антител, включают лимфоцитарные клеточные линии, например клетки миеломы NSO и клетки SP2, клетки COS.

Настоящее изобретению также относится к способу получения молекулы антитела

по настоящему изобретению, включающему культивирование клетки-хозяина, содержащей вектор по настоящему изобретению, в условиях, подходящих для экспрессии белка из ДНК, кодирующей молекулу антитела по настоящему изобретению, и выделение молекулы антитела.

Молекула антитела может содержать только полипептид тяжелой или легкой цепи, и в этом случае используют только последовательность, кодирующую полипептид тяжелой или легкой цепи, которая должна быть трансфицирована в клетку-хозяина. Для получения продуктов, содержащих как тяжелые, так и легкие цепи, клеточная линия может быть трансфицирована двумя векторами, где первый вектор кодирует полипептид легкой цепи, а второй вектор кодирует полипептид тяжелой цепи. Альтернативно, можно использовать один вектор, который включает последовательности, кодирующие полипептиды легкой цепи и тяжелой цепи.

Антитела и фрагменты по настоящему изобретению экспрессируются клетками-хозяевами с хорошим выходом. Таким образом, свойства антител и/или фрагментов являются благоприятными для производства в промышленном масштабе.

Таким образом, предложен способ культивирования клетки-хозяина и экспрессии антитела или его фрагмента, выделения последнего и, необязательно, его очистки с получением выделенного антитела или фрагмента. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает этап конъюгирования эффекторной молекулы с выделенным антителом или фрагментом, например конъюгирование с полимером ПЭГ, в частности, как описано в настоящей заявке.

В одном из вариантов осуществления предложен способ очистки антитела (в частности, антитела или фрагмента по изобретению), включающий этапы: осуществления анионообменной хроматографии в несвязывающем режиме, при котором примеси остаются в колонке, а антитело элюирует.

В одном из вариантов осуществления при очистке используется аффинный захват на колонке с FcRn.

В одном из вариантов осуществления для очистки используют цибакрон голубой или аналогичный краситель для очистки молекул слитого или конъюгированного альбумина.

Подходящие ионообменные смолы для использования в этом способе включают смолу Q.FF (поставляемую GE-Healthcare). Этот этап, например, может быть выполнен при pH, равном примерно 8.

Способ может дополнительно включать начальный этап захвата, в котором используется катионообменная хроматография, выполняемая, например, при pH примерно от 4 до 5, например 4,5. Для катионообменной хроматографии можно, например, использовать смолу, такую как смола CaptoS или SP-цефароза FF (поставляемая GE-Healthcare). Затем антитело или его фрагмент можно элюировать из смолы, используя ионно-солевой раствор, такой как хлорид натрия, например, в концентрации 200 mM.

Таким образом, этап или этапы хроматографии могут включать один или более



этапов промывки, в зависимости от ситуации.

Способ очистки также может включать один или более этапов фильтрования, таких как этап диафильтрации.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления предложено очищенное анти-FcRn антитело или его фрагмент, например, гуманизированное антитело или его фрагмент, в частности антитело или его фрагмент по изобретению, по существу очищенное, в частности свободное или по существу свободное от эндотоксина и/или белка или ДНК клетки-хозяина.

Очищенная форма, как используется выше, означает степень чистоты по меньшей мере 90%, такую как 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% по массе или более.

По существу, свободный от эндотоксина, как правило, относится к содержанию эндотоксина 1 МЕ на мг продукта антитела или менее, например 0,5 или 0,1 МЕ на мг продукта.

По существу свободный от белка или ДНК клетки-хозяина относится к содержанию белка и/или ДНК клетки-хозяина, равному 400 мкг на мг продукта антитела или менее, например 100 мкг на мг или менее, в частности 20 мкг на мг, в зависимости от ситуации.

Поскольку антитела по настоящему изобретению полезны для лечения и/или профилактики патологического состояния, настоящее изобретение также относится к фармацевтической или диагностической композиции, содержащей молекулу антитела по настоящему изобретению в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями. Соответственно, предложено применение молекулы антитела по изобретению для изготовления лекарственного средства. Композиция обычно поставляется в виде части стерильной фармацевтической композиции, которая обычно включает фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может дополнительно содержать фармацевтически приемлемый наполнитель.

Настоящее изобретение также относится к способу приготовления фармацевтической или диагностической композиции, включающему добавление и смешивание молекулы антитела по настоящему изобретению вместе с одним или более фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

Молекула антитела может быть единственным активным ингредиентом в фармацевтической или диагностической композиции или может вводиться с другими активными ингредиентами, включая другие ингредиенты-антитела или ингредиенты, не являющиеся антителами, такие как стероиды или другие молекулы лекарственных веществ, в частности молекулы лекарственных веществ, период полувыведения которых не зависит от связывания FcRn.

Фармацевтические композиции соответственно содержат терапевтически эффективное количество антитела по изобретению. В контексте настоящего описания термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству

терапевтического агента, необходимому для лечения, улучшения или профилактики целевого заболевания или состояния или для проявления обнаруживаемого терапевтического или профилактического эффекта. Для любого антитела терапевтически эффективное количество может быть изначально оценено с помощью анализа либо на клеточных культурах, либо на моделях на животных, как правило, грызунов, кроликов, собак, свиней или приматов. Животную модель также можно использовать для определения подходящего диапазона концентраций и пути введения. Такая информация затем может быть использована для определения полезных доз и путей введения людям. Подходящие дозы приведены ниже.

Фармацевтические композиции могут быть представлены в удобных единичных дозированных формах, содержащих заранее определенное количество активного агента по изобретению на дозу.

Терапевтические дозы антител по настоящему изобретению не имеют явно выраженных токсикологических эффектов *in vivo*.

В одном из вариантов осуществления антитела или фрагмента по изобретению единичная доза может обеспечивать уменьшение уровня IgG в кровотоке до 70%.

В одном из примеров способа или применения по настоящему изобретению максимальное уменьшение (надир) уровня IgG в кровотоке может составлять до 40%, до 50%, до 60% или до 70%.

Максимальное терапевтическое уменьшение уровня IgG в кровотоке можно наблюдать примерно через 1 неделю после введения соответствующей терапевтической дозы. Уровни IgG могут восстанавливаться в течение примерно шести недель, если не вводятся дополнительные терапевтические дозы. Альтернативно, максимальное терапевтическое уменьшение уровня IgG в кровотоке можно наблюдать примерно через 2, 3, 4, 5 или 6 недель после введения соответствующей терапевтической дозы(доз).

Преимущественно уровни IgG *in vivo* можно поддерживать на соответствующем низком уровне путем введения последовательных доз антитела или фрагментов по настоящему изобретению.

Композиции можно вводить пациенту отдельно или в комбинации (например, одновременно, последовательно или раздельно) с другими агентами, лекарственными веществами или гормонами.

В одном из вариантов осуществления антитела или фрагменты по настоящему изобретению используются с иммунодепрессантной терапией, такой как стероидная терапия, в частности с преднизолоном.

В одном из вариантов осуществления антитела или фрагменты по настоящему изобретению используют с ритуксимабом или другими В-клеточными терапевтическими агентами.

В одном из вариантов осуществления антитела или фрагменты по настоящему изобретению используют с любым В-клеточным или Т-клеточным модулирующим агентом или иммуномодулятором. Примеры включают метотрексат, микрофенилат и

азатиоприн.

Частота введения дозы зависит от периода полувыведения молекулы антитела и продолжительности ее действия. Если молекула антитела имеет короткий период полувыведения (например, от 2 до 10 часов), может потребоваться введение одной или более доз в сутки. Альтернативно, если молекула антитела имеет длительный период полувыведения (например, от 2 до 15 дней) и/или продолжительный фармакодинамический профиль (PD), может потребоваться введение дозы только один раз в сутки, один раз в неделю или даже один раз в 1 или 2 месяца. Подходящие режимы дозирования приведены ниже.

В одном из вариантов осуществления дозу доставляют раз в две недели, т.е. два раза в месяц.

Предполагается, что период полувыведения, используемый в настоящем описании, относится ко времени нахождения молекулы в кровотоке, например, в сыворотке/плазме.

В контексте настоящего изобретения фармакодинамика относится к профилю и, в частности, продолжительности биологического действия молекулы по настоящему изобретению.

Фармацевтически приемлемый носитель сам по себе не должен вызывать продуцирование антител, вредных для индивидуума, получающего композицию, и не должен быть токсичным. Подходящими носителями могут быть крупные медленно метаболизируемые макромолекулы, такие как белки, полипептиды, липосомы, полисахариды, полимолочные кислоты, полигликолевые кислоты, полимерные аминокислоты, аминокислотные сополимеры и неактивные вирусные частицы.

Можно использовать фармацевтически приемлемые соли, например соли минеральных кислот, такие как гидрохлориды, гидробромиды, фосфаты и сульфаты, или соли органических кислот, такие как ацетаты, пропионаты, малонаты и бензоаты.

Фармацевтически приемлемые носители в терапевтических композициях могут дополнительно содержать жидкости, такие как вода, физиологический раствор, глицерин и этанол. Кроме того, в таких композициях могут присутствовать вспомогательные вещества, такие как смачивающие или эмульгирующие агенты или pH-буферные вещества. Такие носители позволяют получать фармацевтические композиции в виде таблеток, пилюль, драже, капсул, жидкостей, гелей, сиропов, кашицы и суспензий для приема внутрь пациентом.

Подходящие формы для введения включают формы, подходящие для парентерального введения, например в виде инъекции или инфузии, например болюсной инъекции или непрерывной инфузии. Если продукт предназначен для инъекций или инфузий, он может принимать форму суспензии, раствора или эмульсии в масляном или водном носителе и может содержать агенты, применяемые при приготовлении лекарственной формы, такие как суспендирующие, консервирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. Альтернативно, молекула антитела может находиться в сухой форме, которую восстанавливают перед введением с помощью соответствующей

стерильной жидкости.

После получения лекарственной формы композиции по изобретению можно вводить непосредственно субъекту. Подлежащие лечению субъекты могут быть животными. Однако в одном или более вариантах осуществления композиции адаптированы для введения людям.

Соответственно в составах по настоящему изобретению рН конечного состава не является схожим со значением изоэлектрической точки антитела или фрагмента, например, если рI белка находится в диапазоне от 8 до 9 или выше, то подходящим значением рН композиции может быть 7. Не ограничиваясь какой-либо теорией, предполагается, что в конечном итоге это может обеспечить конечную композицию с улучшенной стабильностью, например, антитело или фрагмент остаются в растворе.

В одном из примеров фармацевтическая композиция с рН в диапазоне от 4,0 до 7,0 содержит от 1 до 200 мг/мл молекулы антитела по настоящему изобретению, от 1 до 100 мМ буфера, от 0,001 до 1% поверхностно-активного вещества, а) от 10 до 500 мМ стабилизатора, б) от 10 до 500 мМ стабилизатора и от 5 до 500 мМ тонизирующего агента, или с) от 5 до 500 мМ тонизирующего агента.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно вводить несколькими способами, включая, без ограничения, пероральный, внутривенный, внутримышечный, внутриартериальный, интрамедуллярный, интратекальный, интравентрикулярный, трансдермальный, чрескожный (например, см. WO98/20734), подкожный, внутрибрюшинный, интраназальный, энтеральный, топический, подъязычный, интравагинальный или ректальный. Для введения фармацевтических композиций по изобретению также могут быть использованы гипоспреи. Как правило, терапевтические композиции могут быть приготовлены в виде инъекционных препаратов, либо в виде жидких растворов, либо суспензий. Также могут быть приготовлены твердые формы, подходящие для растворения или суспендирования в жидких носителях перед инъекцией.

Прямая доставка композиций обычно осуществляется путем инъекции, подкожно, внутрибрюшинно, внутривенно или внутримышечно, или доставляется в межклеточное пространство ткани. Дозировка при лечении может представлять собой одну или более доз. Предпочтительно доставка является подкожной.

Понятно, что активный ингредиент в композиции будет представлять собой молекулу антитела. Как таковой, он будет подвержен деградации в желудочно-кишечном тракте. Таким образом, если композиция предназначена для введения способом, в котором предусмотрено участие желудочно-кишечного тракта, композиция должна содержать агенты, которые защищают антитело от деградации, но которые высвобождают антитело после его всасывания из желудочно-кишечного тракта.

Подробное обсуждение фармацевтически приемлемых носителей можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N.J. 1991).

Антитело по изобретению можно доставлять диспергированным в растворителе,

например, в форме раствора или суспензии. Оно может быть суспендировано в подходящем физиологическом растворе, например, физиологическом растворе или другом фармакологически приемлемом растворителе или забуференном растворе. В суспензии можно использовать, например, лиофилизированное антитело.

Терапевтические суспензии или составы растворов также могут содержать один или более наполнителей. Наполнители хорошо известны в данной области и включают буферы (например, цитратный буфер, фосфатный буфер, ацетатный буфер и бикарбонатный буфер), аминокислоты, мочевины, спирты, аскорбиновую кислоту, фосфолипиды, белки (например, сывороточный альбумин), ЭДТА, хлорид натрия, липосомы, маннит, сорбит и глицерин. Растворы или суспензии могут быть инкапсулированы в липосомы или биоразлагаемые микросферы. Состав, как правило, предоставляется в практически стерильной форме, полученной с помощью способов, предусматривающих стерильное изготовление.

Это может включать приготовление и стерилизацию путем фильтрации забуференного растворителя/раствора, используемого для состава, асептической суспензии антитела в стерильном забуференном растворе растворителя, и дозирования состава в стерильные сосуды способами, известными специалистам в данной области техники.

После приготовления лекарственной формы композиции по настоящему изобретению могут быть введены непосредственно субъекту-человеку, хотя в описании также предполагается, что способ можно применять для субъектов, не являющихся человеком. Человек в некоторых аспектах изобретения страдает от первичной персистирующей или хронической первичной ИТР. Недавно были введены новые определения фаз заболевания (Rodeghiero et al., 2009 Blood. 2009; 113 (11): 2386-93). В зависимости от времени постановки диагноза первая фаза (до 3 месяцев) представляет собой «впервые диагностированную ИТР», фаза 2 (от >3 месяцев до 12 месяцев) представляет собой «персистирующую фазу», а спустя 12 месяцев начинается «хроническая фаза». Эти фазы также отражают линию терапии.

Основной целью лечения при первичной ИТР является обеспечение достаточного количества тромбоцитов для предотвращения или остановки кровотечения, а не коррекция количества тромбоцитов до нормального уровня. При хронической ИТР цель лечения также состоит в том, чтобы избежать или отсрочить риски лечения более токсичными методами лечения (например, применение спленэктомии или иммуносупрессии), снизить воздействие кортикостероидов до минимальных уровней в течение минимального времени и достичь пролонгированного ответа. Лечение при необходимости во время или в случае высокого риска кровотечения или хирургических процедур является другим часто оправданным подходом.

Соответственно, в одном из примеров способ лечения по настоящему изобретению можно использовать для лечения ИТР при необходимости.

Аутоантитела, участвующие в патогенезе ИТР, могут включать как изотипы IgG,

так и не-IgG. В одном из примеров способ лечения по настоящему изобретению может использоваться для лечения пациентов с ИТР, у которых определено, что IgG является доминирующим изотипом.

Эффективным лечением ИТР считается достижение количества тромбоцитов, которое предотвращает сильное кровотечение, а не коррекция количества тромбоцитов до нормального уровня.

Соответственно, лечение ИТР должно быть адаптировано к отдельному пациенту, и оно редко назначается пациентам с количеством тромбоцитов выше  $50 \times 10^9/\text{л}$  при отсутствии кровотечений, травм, операций или факторов высокого риска (например, пациентам, получающим антикоагулянтную терапию) (ЕМА/CHMP/153191/2013, 2014).

Тем не менее, общепринято, что взрослые с показателем тромбоцитов  $<30 \times 10^9/\text{л}$  с кровотечением при диагностике, как правило, нуждаются в лечении.

#### Режимы введения

Композиция предпочтительно содержит терапевтически эффективное количество антитела (или его антигенсвязывающего фрагмента). В контексте настоящего описания термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству терапевтического агента, необходимому для лечения, улучшения или профилактики целевого заболевания или состояния или для проявления обнаруживаемого терапевтического или профилактического эффекта. «Режим введения» включает количество (дозу) вводимого антитела или его фрагмента, а также время введения, если предусмотрено введение нескольких доз.

Существует несколько методов характеристики заболевания ИТР и эффективности лечения, которые подходят для выявления положительного биологического ответа у субъекта.

Одной из оценок является количество тромбоцитов.

Другой полезной оценкой ИТР является оценка кровотечения при ИТР.

Международная рабочая группа по ИТР в настоящее время предлагает согласованный ИТР-специфический инструмент оценки кровотечений (ИТР-ВАТ), основанный на точном определении проявлений кровотечений и классификации их тяжести (Rodeghiero et al, 2013, Standardization of bleeding assessment in immune thrombocytopenia: report from the International Working Group. Blood. 121(14):2596-606.). Оценка кровотечений при ИТР может быть выполнена с помощью инструмента ИТР-ВАТ версии 1.0.

Согласно ИТР-ВАТ, проявления кровотечения сгруппированы в 3 основных домена: кожа (S), видимые слизистые оболочки (M) и органы (O) с градацией тяжести (SMOG). Каждое проявление кровотечения оценивается во время обследования. Степень тяжести имеет баллы от 0 до 3 или 4, при этом балл 5 соответствует случаю возникновения любого смертельного кровотечения. Кровотечение, о котором сообщил субъект, не отраженное в медицинской карте, оценивается равным 1. В каждом домене одинаковый балл присваивается проявлениям кровотечения со схожим клиническим воздействием.

Оценивается «наихудшее» проявление кровотечения после последнего посещения в период наблюдения, и регистрируется наивысший балл в каждом домене. Система SMOG обеспечивает последовательное описание фенотипа кровотечения при ИТР, см. фиг. 4.

Отсутствие кровотечения имеет балл 0 для всех доменов SMOG. Наличие кровотечения имеет балл 1 или выше для по меньшей мере одного домена SMOG.

В одном из примеров эффективность (клинический ответ) определяют как количество тромбоцитов  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  и по меньшей мере 2-кратное увеличение исходного количества.

В одном из примеров эффективность (клинический ответ) определяют как количество тромбоцитов  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  и по меньшей мере 2-кратное увеличение по сравнению с исходным значением и отсутствие кровотечений.

В одном из примеров эффективность (клинический ответ) определяют как количество тромбоцитов  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ .

В одном из примеров эффективность (клинический ответ) определяют как количество тромбоцитов  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  и отсутствие кровотечения.

В одном из примеров эффективность (полный клинический ответ) определяют как количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ .

В одном из примеров эффективность (полный клинический ответ) определяют как количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$  и отсутствие кровотечения.

В одном из примеров клинический ответ определяют после того, как описанное выше количество тромбоцитов подтверждено в 2 отдельных случаях с интервалом не менее 7 дней (т.е. вторая оценка должна быть выполнена через  $\geq 168$  часов после первой оценки).

В контексте настоящего описания термин «лечение» относится к любому уменьшению тяжести ИТР, а «профилактика» относится к любому уменьшению или задержке появления симптомов ИТР. Специалист в данной области поймет, что любая степень защиты или улучшение ИТР или симптома, связанного с ним, полезна для субъекта, такого как пациент-человек. Качество жизни пациента улучшается за счет уменьшения степени тяжести симптомов у субъекта и или задержки появления симптомов. Соответственно, в одном из аспектов способ выполняют как можно скорее после того, как было определено, что субъект страдает или подвержен риску развития ИТР.

Основной целью лечения при первичной ИТР является обеспечение достаточного количества тромбоцитов для предотвращения или остановки кровотечения, а не коррекция количества тромбоцитов до нормального уровня. При хронической ИТР цель лечения также состоит в том, чтобы избежать или отсрочить риски лечения более токсичными методами лечения (например, применение спленэктомии или иммуносупрессии), снизить воздействие кортикостероидов до минимальных уровней в течение минимального времени и достичь пролонгированного ответа. Лечение при необходимости во время или в случае высокого риска кровотечения или хирургических процедур является другим часто оправданным подходом.

В различных аспектах антитело или его фрагмент вводят по схеме введения, которая обеспечивает улучшение количества тромбоцитов, например, через один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать или двенадцать недель после первоначального введения антитела или его фрагмента.

Альтернативно или в дополнение, антитело или его фрагмент вводят по схеме введения, которая обеспечивает улучшение количества тромбоцитов и показателя кровотечения при ИТР по сравнению с предшествующим лечением. Предпочтительно улучшение количества тромбоцитов и показателя кровотечения при ИТР наблюдают, например, через одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать или двенадцать недель после первоначального введения антитела или его фрагмента.

Улучшение является таким, как изложено выше для клинического ответа, например, улучшение может быть увеличением количества тромбоцитов до  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  и по меньшей мере 2-кратным увеличением исходного уровня.

В качестве альтернативы, улучшение может заключаться в увеличении количества тромбоцитов до  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  и по меньшей мере 2-кратным увеличением по сравнению с исходным значением и отсутствии кровотечений.

В качестве альтернативы, улучшение может заключаться в увеличении количества тромбоцитов до  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ .

В качестве альтернативы, улучшение может заключаться в увеличении количества тромбоцитов до  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  и отсутствии кровотечения.

В качестве альтернативы, улучшение может заключаться в увеличении количества тромбоцитов до  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ .

В качестве альтернативы, улучшение может заключаться в увеличении количества тромбоцитов до  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$  и отсутствии кровотечения.

В одном из примеров улучшение определяют после того, как количество тромбоцитов, описанное выше, подтверждают в 2 отдельных случаях с интервалом не менее 7 дней (т.е. вторая оценка должна быть проведена через  $\geq 168$  часов после первой оценки).

Точное терапевтически эффективное количество для субъекта-человека будет зависеть от тяжести болезненного состояния, общего состояния здоровья субъекта, возраста, веса и пола субъекта, диеты, времени и частоты введений, комбинации(й) лекарственных веществ, аллергической реакции и толерантности/реакции на терапию. Как правило, терапевтически эффективное количество составляет от 0,01 до 500 мг/кг, предпочтительно от 0,1 до 30 мг/кг (например, от 4 до 25 мг/кг, например примерно 10 мг/кг, 20 мг/кг или 21 мг/кг). Композиции могут быть представлены в удобных единичных дозированных формах, содержащих заранее определенное количество активного агента по изобретению на дозу. Диапазоны доз и схемы для любого из вариантов осуществления, описанных в настоящей заявке, включают, без ограничения, дозы в диапазоне от 1 мг до 100 мг единичных доз (например, 4 мг, 7 мг, 10 мг, 15 мг, 20 мг, 25 мг или 30 мг) или 100-



200 мг единичных доз, таких как 100 мг, 140 мг, 160 мг единичных доз, вводимых каждые 1-10 недель (любым способом введения, например путем подкожного или внутривенного введения).

Необязательно, дозу антитела вводят каждые 1-20 недель, например, каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель или каждые 8-12 недель (например, каждые 8 недель, каждые 9 недель, каждые 10 недель, каждые 11 недель или каждые 12 недель). Период лечения (т.е., период времени, в течение которого субъекту вводят одну или более доз антитела), может составлять по меньшей мере 1 неделю, по меньшей мере 2 недели, по меньшей мере 3 недели, по меньшей мере 4 недели, по меньшей мере 5 недель по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 7 недель, по меньшей мере 8 недель или более. Во время лечения может быть введено любое подходящее количество доз, такое как дозы и время между введениями, описанные выше. Например, одна, две, три, четыре или пять доз антитела вводят субъекту в течение, например, 5-недельного периода лечения (необязательно в неделю 0 и каждую последующую неделю (неделю 1, неделю 2, неделю 3 и неделю 4) или 3-недельный период лечения (необязательно в неделю 0 и каждую последующую неделю (неделю 1 и неделю 2)).

Таким образом, в одном из аспектов предложен способ лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопении (ИТП) у человека, где способ включает введение человеку от 1 до 5 доз анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель, при этом суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг.

Понятно, что терапевтически эффективное количество может доставляться в виде одной дозы или нескольких доз в течение определенного периода лечения. Например, доза 20 мг/кг может быть введена в виде единичной дозы или в виде 5 доз по 4 мг/кг.

В одном из примеров каждая доза составляет 4 мг/кг, например, вводимая в виде пяти отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего пять недель, в частности, пять последовательных недель.

В одном из примеров каждая доза составляет 7 мг/кг, например, вводимая в виде трех отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего три недели, в частности, три последовательные недели.

В одном из примеров каждая доза составляет 10 мг/кг, например, вводимая в виде двух отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего две недели, в частности, две последовательные недели.

В одном из примеров вводят единичную дозу, например единичную дозу 15 мг/кг.

В одном из примеров единичная доза составляет 20 мг кг.

В одном из примеров единичная доза составляет 25 мг кг.

В одном из примеров единичная доза составляет 30 мг кг.

В одном из примеров суммарную дозу (т.е. общую дозу, полученную во время лечения) выбирают из 10, 15, 20, 21, 25 и 30 мг/кг.

В одном из примеров каждая доза составляет 4 мг/кг, например, вводимая в виде пяти отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего пять недель, в частности, пять последовательных недель, что дает суммарную дозу, равную 20 мг/кг.

В одном из примеров каждая доза составляет 7 мг/кг, например, вводимая в виде трех отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего три недели, в частности, три последовательные недели, что дает суммарную дозу, равную 21 мг/кг.

В одном из примеров каждая доза составляет 10 мг/кг, например, вводимая в виде двух отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего две недели, в частности, две последовательные недели, что дает суммарную дозу, равную 20 мг/кг.

В одном из примеров каждая доза составляет 15 мг/кг, например, вводимая в виде двух отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего две недели, в частности, две последовательные недели, что дает суммарную дозу, равную 30 мг/кг.

Необязательно, в этом способе используется стратегия повторного введения дозы с другими режимами дозирования, включающими более высокую начальную дозу (т.е. «ударную дозу»), за которой следуют одна или несколько более низких доз (т.е. одна или более вторичные или дополнительные дозы, которые ниже начальной дозы («поддерживающие дозы»)), хотя также предусмотрена более низкая ударная доза, за которой следуют более высокие поддерживающие дозы. В одном из вариантов осуществления поддерживающие дозы могут составлять одну четвертую, одну треть, половину, две трети, три четвертых, такую же, одну и одну четвертую, одну и одну треть, одну и половину, одну и две трети, одну и три четвертых, двойную или более от ударной дозы. Режим введения нескольких доз без ударной дозы также рассматривается как часть изобретения.

Частота введения дозы зависит от периода полувыведения молекулы антитела и продолжительности ее действия. Если молекула антитела имеет короткий период полувыведения (например, от 2 до 10 часов), может потребоваться введение одной или более доз в сутки. Альтернативно, если молекула антитела имеет длительный период полувыведения (например, от 2 до 15 дней), может потребоваться введение дозы только один раз в сутки, один раз в неделю или даже один раз в месяц или один раз в 2 месяца. Альтернативно или в дополнение частота дозирования может быть определена с учетом тяжести заболевания, определенной, например, с помощью мониторинга биомаркера заболевания и/или мониторинга уровня тромбоцитов у пациента и/или уровней IgG в сыворотке.

В одном из вариантов осуществления одну или более поддерживающих доз вводят с некоторым интервалом после введения ударной дозы. Этот интервал может быть согласован для каждой дозы или может меняться. Этот интервал может составлять 1 день, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 1 месяц, 6 недель, 8 недель, через месяц или любой другой интервал. В одном из вариантов осуществления после ударной дозы каждые две недели вводят пять поддерживающих доз, что в общей сложности составляет шесть доз.

Соответственно, в одном из примеров способ лечения по настоящему изобретению дополнительно включает введение одной или более вторых или дополнительных доз, которые ниже, чем начальная доза(ы).

Понятно, что эти дополнительные дозы могут вводиться после начального периода лечения более высокой «ударной дозой».

Соответственно, в одном из примеров, более высокая начальная суммарная доза 20-30 мг в ходе лечения длительностью предпочтительно 1-5 недель может сопровождаться дополнительным периодом лечения поддерживающей дозой.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопении (ИТП) у человека, где способ включает введение человеку от 1 до 5 доз анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель, при этом суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг, после чего следуют одна или более вторичные или дополнительные дозы, которые меньше начальной дозы.

В одном из примеров настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопении (ИТП) у человека, где способ включает введение человеку от 1 до 5 доз анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 5 недель, при этом суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 20 до 30 мг на кг, после чего следуют одна или более вторичные или дополнительные дозы, которые меньше начальной(ых) дозы(доз).

В одном из примеров настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопении (ИТП) у человека, включающему введение человеку 1 или 2 дозы анти-FcRn антитела или антигенсвязывающего фрагмента во время лечения длительностью 1 или 2 недели, где суммарная доза во время лечения составляет 20 мг на кг или 30 мг/кг, необязательно с последующей одной или более вторичными или дополнительными дозами, которые меньше начальной дозы (поддерживающие дозы).

В одном из примеров каждая доза составляет 10 мг/кг, например, вводимая в виде двух отдельных доз во время лечения длительностью две недели, в частности в течение двух последовательных недель, за которыми необязательно следует еще одна дополнительная доза, которая меньше, чем 10 мг/кг.

В одном из примеров каждая доза составляет 15 мг/кг, например, вводимая в виде двух отдельных доз во время лечения длительностью две недели, в частности в течение двух последовательных недель, за которыми необязательно следует еще одна дополнительная доза, которая меньше, чем 15 мг/кг.

В одном из примеров единичную дозу 15 мг/кг вводят во время лечения длительностью одна неделя, за которой необязательно следует еще одна дополнительная доза, которая меньше, чем 15 мг/кг.

В одном из примеров единичную дозу 20 мг/кг вводят во время лечения длительностью одна неделя, за которой необязательно следует еще одна дополнительная доза, которая меньше, чем 20 мг/кг.

В одном из примеров каждая более низкая («поддерживающая») доза составляет от 4 до 10 мг/кг, предпочтительно 4 или 7 мг/кг.

Как указано выше, эти дозы могут вводиться с любым подходящим интервалом, таким как 1 неделя, 2 недели, 3 недели, 4 недели, ежемесячно, 6 недель, 8 недель, через месяц, или любым другим интервалом.

В одном из примеров поддерживающую дозу вводят с недельным интервалом.

В одном из примеров поддерживающую дозу вводят с интервалом каждые 2 недели.

В одном из примеров поддерживающую дозу вводят с интервалом каждые 4 недели.

В одном из примеров поддерживающую дозу вводят ежемесячно.

В одном из примеров более высокая начальная доза (ударная доза) включает лечение 5 дозами по 4 мг/кг или 3 дозами по 7 мг/кг с еженедельными интервалами во время лечения длительностью 5 или 3 недели (суммарная доза 20 и 21 мг/кг, соответственно), а поддерживающая доза может включать дозу 4 мг/кг или 7 мг/кг с подходящим интервалом, таким как каждые 2 недели, 3 недели, 4 недели, ежемесячно, 6 недель, 8 недель, через месяц, или любым другим интервалом.

Способ лечения по настоящему изобретению может быть подходящим как для лечения при необходимости, так и/или поддерживающей терапии ИТР.

Время между введениями можно уменьшать по мере улучшения состояния или увеличивать, если оно ухудшается, возвращаясь к более высоким дозам, необходимым во время острых эпизодов.

Время введения также может быть определено путем мониторинга уровней тромбоцитов у пациента и/или уровней IgG в сыворотке.

В одном из примеров способ лечения по настоящему изобретению можно использовать для лечения ИТР при необходимости.

Аутоантитела, участвующие в патогенезе ИТР, могут включать как изотипы IgG, так и не-IgG. В одном из примеров способ лечения по настоящему изобретению может использоваться для лечения пациентов с ИТР, у которых определено, что IgG является доминирующим изотипом.

В одном из аспектов предложен способ лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопении (ИТР) у человека, где способ включает введение человеку от 1 до 5 доз анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель, при этом суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 40 мг на кг.

В одном из примеров каждая доза составляет 20 мг/кг, например, вводимая в виде пяти отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего пять недель,

в частности, пять последовательных недель, что дает суммарную дозу, равную 40 мг/кг.

В одном из примеров каждая доза составляет 20 мг/кг, например, вводимая в виде двух отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего две недели, в частности две последовательные недели, что дает суммарную дозу 40 мг/кг, за которой необязательно следуют дополнительные дозы, которые меньше, чем 20 мг/кг.

В контексте настоящего описания «содержащий» подразумевает включающий.

В случаях, когда это технически приемлемо, варианты осуществления изобретения могут быть объединены.

Варианты осуществления описаны в настоящей заявке как содержащие определенные признаки/элементы. Изобретение также включает отдельные варианты осуществления, состоящие или, по существу, состоящие из указанных признаков/элементов.

Технические ссылки, такие как патенты и заявки, включены в настоящее описание в качестве ссылки.

Настоящее изобретение описано ниже путем иллюстрации только в приведенных ниже примерах со ссылкой на прилагаемые чертежи, на которых:

На фиг. 1 показаны некоторые аминокислотные и полинуклеотидные последовательности.

На фиг. 2 показано выравнивание некоторых последовательностей.

На фиг. 3 показана схема исследования ИТР (SubQ; UCB7665) - открытое исследование безопасности и переносимости.

На фиг. 4 показан инструмент для оценки кровотечений при ИТР (ИТР-ВАТ)

На фиг. 5 показано уменьшение относительно исходного уровня (среднее уменьшение уровня IgG) после многократного введения 4, 7 и 10 мг/кг UCB7665.

На фиг. 6 показано среднее количество тромбоцитов после многократного введения 4, 7 и 10 мг/кг UCB7665 (только у субъектов с ответом на лечение)

На фиг. 7 показано уменьшение относительно исходного уровня (среднее уменьшение уровня IgG) после многократного введения 4, 7, 10 мг/кг и одного введения 15 мг/кг UCB7665.

## **ПРИМЕРЫ**

### **Пример 1:**

UCB7665 впервые описан в WO2014019727 и содержит последовательности CDR, представленные в настоящем описании в SEQ ID NO: 1-6. Он включает легкую цепь SEQ ID NO: 22 и тяжелую цепь SEQ ID NO: 43.

UCB7665 известен под МНН розаноликсизумаб.

**Сродство связывания с hFcRn, наблюдаемое у UCB7665 (воспроизведено по WO2014019727)**

Анализ биомолекулярного взаимодействия методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) выполняли на системе Biacore T200 (GE Healthcare) и определяли связывание с внеклеточным доменом человеческого FcRn. Внеклеточный домен

человеческого FcRn представлен в виде нековалентного комплекса между внеклеточным доменом альфа-цепи человеческого FcRn (SEQ ID NO: 94) и  $\beta$ 2-микроглобулином ( $\beta$ 2M) (SEQ ID NO: 95). Аффинно-чистый F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент козьего антитела к человеческому IgG, специфический (для захвата Fab'-ПЭГ), или Fc-фрагмент, специфический (для захвата IgG1 или IgG4) (Jackson ImmunoResearch Lab, Inc.), в 10 mM NaAc буфере, pH 5, иммобилизовали на сенсорном микрочипе CM5 путем присоединения через аминогруппу до уровня захвата от 4000 до 5000 единиц ответа (RU), используя в качестве рабочего буфера HBS-EP<sup>+</sup> (GE Healthcare). В качестве рабочего буфера для анализа сродства использовали 50 mM фосфатного буфера, pH 6, + 150 mM NaCl+0,05% P20 или HBS-P, pH 7,4 (GE Healthcare). Антитело разбавляли до 4 мкг/мл (IgG4) в рабочем буфере. Для захвата иммобилизованным F(ab')<sub>2</sub> к человеческому IgG использовали 60-секундную инъекцию IgG4, вводимую со скоростью 10 мкл/мин. Внеклеточный домен человеческого FcRn титровали от 20 нМ до 1,25 нМ над захваченным анти-FcRn антителом в течение 300 секунд со скоростью 30 мкл/мин с последующей диссоциацией в течение 1200 секунд. Поверхность восстанавливали потоком 50 mM HCl со скоростью 10 мкл/мин, пропускаемым в течение 60 секунд 2 раза.

Данные анализировали с помощью программного обеспечения T200 для оценки (версия 1.0).

pH 7,4

| 1519.g57 | $k_a$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) | $k_d$ (s <sup>-1</sup> ) | KD (M)   | KD (нМ) |
|----------|------------------------------------------|--------------------------|----------|---------|
| IgG4P    | 3,68E+05                                 | 1,26E-05                 | 3,43E-11 | 34      |

pH6

| 1519.g57 | $k_a$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) | $k_d$ (s <sup>-1</sup> ) | KD (M)   | KD (нМ) |
|----------|------------------------------------------|--------------------------|----------|---------|
| IgG4P    | 4,43E+05                                 | 1,00E-05                 | 2,26E-11 | 23      |

Данные по сродству для к IgG4P у анти-hFcRn 1519.g57 при pH 7,4 и pH 6 (среднее арифметическое для трех экспериментов).

#### **Кристаллография и связывающий эпитоп UCS7665 (воспроизведено из WO2014019727)**

Определяли кристаллическую структуру Fab' 1519g57 и дегликозилированного внеклеточного домена человеческого FcRn (внеклеточный домен альфа-цепи (SEQ ID NO: 94) в ассоциации с бета2-микроглобулином SEQ ID NO: 95), при этом для облегчения кристаллизации из FcRn был исключен олигахарид. Выполняли реакцию Fab' 1519.g57 с N-этилmaleимидом, взятом в 10-кратном молярном избытке, который препятствовал образованию ди-Fab', и любой имеющийся ди-Fab' удаляли с помощью SEC (S200 на Akta FPLC). Внеклеточный домен человеческого FcRn обрабатывали PNGaseF для удаления N-связанных сахаров. Для этого концентрацию образца FcRn доводили до 5 мг/мл и общего объема 1 мл с помощью PBS (pH 7,4). К этому раствору человеческого FcRn добавляли 200 единиц PNGaseF (Roche), затем инкубировали при 37°C в течение ~18 часов, после чего степень дегликозилирования проверяли с помощью SDS PAGE. По завершении

реакции заменяли буфер для дегликозилированного FcRn на 50 mM ацетат натрия, 125 mM NaCl, pH 6,0.

Комплекс формировали путем инкубации смеси реагентов (Fab':FcRn::1.2:1, мас./мас.) при комнатной температуре в течение 60 минут, а затем очищали с помощью SEC (S200, используя Akta FPLC). Скрининг выполняли, используя различные условия, доступные от Qiagen (примерно 2000 условий). Инкубацию и визуализацию выполняли с помощью устройства для визуализации Formulatrix Rock Imager 1000 (общий инкубационный период - 21 день).

После связывания Fab' 1519g57 видимые изменения в структуре FcRn отсутствовали (при сравнении этого комплекса с опубликованными структурами FcRn). Исходя из кристаллической структуры вычисляли вторичную структуру, которая содержит:  $\alpha$ -спираль 9,4%;  $\beta$ -лист 45,2%; 3-10 поворот 2,5%.

Все остатки, взаимодействующие с Fab' 1519g57, находились полностью в  $\alpha$ -цепи FcRn (не  $\beta$ 2M) и указаны ниже жирным шрифтом. Рассмотренные остатки включают все остатки, кроме 1, которые являются критическими для связывания Fc. 1519g57 связывается в области, которая перекрывает Fc-связывающую область, что наводит на предположение о том, что блокада FcRn при помощи Fab' 1519g57 является простой конкуренцией, где анти-FcRn эффективен благодаря своему превосходному сродству связывания.

AESHLSLLYH LTAVSSPAPG TPAFWVSGWL GPQQYLSYNS LRGEAEPCGA  
WVWENQVSWY WEKETTDLRI KEKLFLEAFK ALGGKGPYTL QGLLGCELGP  
DNTSVPTAKF ALNG**EEFMNF** **DLKQGTWGGD** **WPEAL**AISQR WQQQDKAANK  
ELTFLLFSCP HRLREHLERG RGNLEWKEPP SMRLKARPSS PGFSVLTCSA  
FSFYPPQL RFLRNGLAAG TGQGDFGPNS DGSFHASSSL TVKSGDENHY  
CCIVQHAGLA QPLRVELESPAKSS

Последовательность  $\alpha$ -цепи FcRn, показывающая остатки, участвующие во взаимодействии с Fab' 1519g57 (жирный шрифт) и являющиеся критическими для взаимодействия с Fc IgG (подчеркнуты). Все критические остатки, кроме 1, участвуют во взаимодействии с Fab' 1519g57.

### Пример 2:

В этом примере описана фаза 2, многоцентрового, открытого, исследования с несколькими дозами для оценки безопасности, переносимости и эффективности UCB7665, вводимого в виде подкожных (sc) доз (TP0001).

#### Обоснование выбора дозы

В исследовании с введением одной увеличивающейся дозы здоровым людям (UP0018) изучали диапазон доз UCB7665 (между 1 и 7 мг/кг) и характер влияния PK и PD на общий IgG.

Предварительные данные показывают, что среднее абсолютное уменьшение уровня IgG и изменение среднего процентного содержания относительно исходного уровня IgG было выше в группах, получавших дозу активного вещества (n=6 в каждой), по сравнению

с объединенной группой, получавшей плацебо внутривенно и подкожно ( $n=12$ ), с максимальным уменьшением на 49,3% (диапазон: от 44,6% до 55,9%), наблюдаемым в день 6 для внутривенной дозы UCB7665, равной 7 мг/кг, и 42,8% (диапазон: от 39,6% до 48,6%) в день 9 для подкожной дозы UCB7665, равной 7 мг/кг.

Определяли взаимосвязь доза-воздействие-реакция с уровнем общего IgG в качестве первичной конечной точки путем нелинейного моделирования смешанных эффектов. Затем использовали PK-PD, полученные для популяции (структурная модель PK-PD, основанная на модели Лоу [Lowe et al, 2010]) в качестве руководства, путем моделирования, для выбора подходящих режимов введения повторных доз, которые имитировали бы уменьшение, достигаемое в парадигме плазмафереза, и давали бы уменьшение уровня IgG на 70% и более.

Моделирование с помощью моделей показывает, что еженедельные дозы UCB7665 4 мг/кг, вводимые в течение 5 последовательных недель приведут к максимальному среднему уменьшению уровня IgG >70%. Ожидается, что аналогичное уменьшение может быть достигнуто после 3 последовательно вводимых еженедельных доз UCB7665 7 мг/кг.

Исследование TP001 - это многоцентровое, открытое, исследование с несколькими дозами для оценки безопасности, переносимости и эффективности UCB7665, вводимого в виде подкожных (sc) доз 4 мг/кг, 7 мг/кг, 10 мг/кг, 15 мг/кг и 20 мг/кг (с конечными кумулятивными дозами 20 мг/кг, 21 мг/кг, 20 мг/кг, 15 мг/кг и 20 мг/кг, соответственно), у лиц в возрасте  $\geq 18$  лет с персистирующей (> 3 месяцев до 12 месяцев после постановки диагноза) или хронической (более 12 месяцев после постановки диагноза) первичной ИТР.

Для исследования в период дозирования планировалось записать в общей сложности от 48 до 66 субъектов (в зависимости от полученных данных по безопасности и соответствующих рекомендаций DMC). Максимальная продолжительность исследования для отдельного субъекта составляет примерно 16 недель.

Исследование предназначено для оценки 5 групп, получающих дозу UCB7665. Субъекты в группе дозы 1 получают 5 доз UCB7665 по 4 мг/кг подкожно с интервалом в 1 неделю, субъекты в группе дозы 2 получают 3 дозы UCB7665 по 7 мг/кг подкожно с интервалом в 1 неделю, субъекты в группе дозы 3 получают 2 дозы UCB7665 по 10 мг/кг подкожно с интервалом в 1 неделю, субъекты в группе дозы 4 получают 1 дозу UCB7665 15 мг/кг подкожно, а субъекты в группе дозы 5 получают 1 дозу UCB7665 20 мг/кг подкожно. См. фиг. 3А.

Исследование состоит из периода скрининга (до 4 недель), периода дозирования от 1 дня до 4 недель, во время которого группе последовательно вводят дозы, и период наблюдения, составляющий 8 недель. Скрининговый визит соответствует в исследовании визиту 1. Период дозирования начинается с визита 2 (визит оценки исходного уровня), при этом визиты для введения доз назначаются с еженедельными интервалами для групп доз 1, 2 и 3, и только для групп доз 4 и 5 назначается один визит. Период наблюдения начинается после введения последней дозы (или введения одной дозы для групп доз 4 и 5) с визитом, запланированным через 3 дня после введения последней дозы, и



еженедельными посещениями после этого визита (т.е. еженедельно после введения последней или одной дозы) в течение 8 недель. Визит в конце исследования назначается в конце периода наблюдения, т.е. через 8 недель после введения последней или одной дозы исследуемого лекарственного средства (ИМР).

Основная цель исследования - оценить безопасность и переносимость вводимого в виде подкожной инфузии UCB7665 у субъектов с ИТР.

Вторичной целью исследования является оценка клинической эффективности UCB7665, измеряемой по изменению количества тромбоцитов, и оценка фармакодинамического (PD) эффекта UCB7665, измеряемого по изменению общей концентрации IgG в сыворотке. Задачи исследования включают следующее: оценить влияние UCB7665 на ИТР-специфические аутоантитела к гликопротеинам (GP) Ia/IIa, GPIIb/IIIa и GPIb/IX в сыворотке крови; оценить клиническую эффективность, измеряемую по изменению показателя кровотечений при ИТР; оценить влияние UCB7665 на концентрации общего белка, альбумина,  $\alpha$ -глобулина и  $\beta$ -глобулина, подклассов IgG, IgM, IgA и IgE, а также уровни комплемента в сыворотке и плазме; оценить появление антител к лекарственному средству (ADA), т.е. оценить антитела к UCB7665 в отношении иммуногенности и фармакокинетики (PK)/PD; оценить взаимосвязь между изменениями количества тромбоцитов и уровней общего IgG, подклассов IgG, ИТР-специфических аутоантител; и оценить концентрации вводимого в виде подкожной инфузии UCB7665 в плазме.

Оценке подлежат следующие показатели эффективности: ответ (количество тромбоцитов  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  и по меньшей мере 2-кратное увеличение исходного показателя) во время исследования и во время визита; полный ответ (количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ ) во время исследования и во время визита; количество тромбоцитов  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  во время исследования и во время визита; максимальное значение и максимальное увеличение количества тромбоцитов относительно исходного уровня во время исследования; значение и изменение количества тромбоцитов относительно исходного уровня с течением времени; площадь под кривой эффекта (AUEC) с поправкой на исходный уровень для подсчета тромбоцитов; время до ответа (время от начала лечения до достижения ответа); время до полного ответа (время от начала лечения до достижения полного ответа); время до достижения количества тромбоцитов  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ ; продолжительность ответа (измеряется от достижения ответа до потери ответа [определяется как количество тромбоцитов ниже  $30 \times 10^9/\text{л}$  или менее чем 2-кратное увеличение относительно исходного количества тромбоцитов]); продолжительность полного ответа (измеряется от достижения полного ответа до потери полного ответа [определяется как количество тромбоцитов ниже  $100 \times 10^9/\text{л}$ ]); время удержания количества тромбоцитов на уровне  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  (измеряется от достижения количества тромбоцитов  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  до снижения количества тромбоцитов ниже  $50 \times 10^9/\text{л}$ ); клинический ответ (определяется как количество тромбоцитов  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  и по меньшей мере 2-кратное увеличение относительно исходного уровня и отсутствие кровотечений);

время до клинического ответа (время от начала лечения до достижения клинического ответа); продолжительность клинического ответа (измеряется от достижения клинического ответа до потери клинического ответа [потеря клинического ответа определяется как количество тромбоцитов  $<30 \times 10^9/\text{л}$  или менее чем 2-кратное увеличение относительно исходного количества тромбоцитов или наличие кровотечения]); полный клинический ответ (определяется как количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$  и отсутствие кровотечения); время до завершения клинического ответа (время от начала лечения до достижения полного клинического ответа); продолжительность полного клинического ответа (измеряется от достижения полного клинического ответа до потери полного клинического ответа [потеря полного клинического ответа, определяется как количество тромбоцитов  $<100 \times 10^9/\text{л}$  или наличие кровотечения]); отсутствие клинического ответа (определяется как количество тромбоцитов  $<30 \times 10^9/\text{л}$  и менее чем 2-кратное увеличение относительно исходного уровня или наличие кровотечения); кровотечение при ИТП с течением времени; и результат лечения по оценке пациента (PRO), т.е. итоговая оценка с течением времени, определенная по индексу неврологической усталости для рассеянного склероза (NFI-MS). Концентрация UCB7665 в плазме с течением времени будет оцениваться как переменная РК. Переменными PD являются минимальное значение и максимальное снижение концентрации общего IgG во время исследования; концентрация подклассов IgG; и ИТП-специфические аутоантитела (GPIa/IIa, GPIIb/IIIa и GPIb/IX) в сыворотке с течением времени.

### **Оценка эффективности**

#### **Количество тромбоцитов**

Для оценки количества тромбоцитов квалифицированный персонал должен собирать образцы крови в одно и то же время для стандартных клинических лабораторных исследований.

Количество тромбоцитов может быть определено в центральной лаборатории, и для анализа вычисляют в статистической базе данных следующие показатели:

ответ во время визита и ответ по меньшей мере один раз во время исследования

полный ответ во время визита и полный ответ по меньшей мере один раз во время исследования

количество тромбоцитов  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  во время визита и по меньшей мере один раз во время исследования

значение и изменение количества тромбоцитов относительно исходного уровня во время визита

AUEC с поправкой относительно исходного уровня для количества тромбоцитов, рассчитанного относительно исходного уровня, во время визита в конце исследования

максимальное значение и максимальное увеличение относительно исходного уровня

время до ответа

время до полного ответа

время до достижения количества тромбоцитов  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$

продолжительность ответа

продолжительность полного ответа

время сохранения количества тромбоцитов на уровне  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$

клинический ответ: количество тромбоцитов  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  и по меньшей мере 2-кратное увеличение относительно исходного уровня и отсутствие кровотечения

время до клинического ответа: время от начала лечения до достижения клинического ответа

продолжительность клинического ответа: измеряется от достижения клинического ответа до потери клинического ответа (потеря клинического ответа определяется как количество тромбоцитов  $< 30 \times 10^9/\text{л}$  или менее чем 2-кратное увеличение относительно исходного количества тромбоцитов или наличие кровотечения)

полный клинический ответ: количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$  и отсутствие кровотечения

время до полного клинического ответа: время от начала лечения до достижения полного клинического ответа

продолжительность полного клинического ответа: измеряется от достижения полного клинического ответа до потери полного клинического ответа (потеря полного клинического ответа определяется как количество тромбоцитов  $< 100 \times 10^9/\text{л}$  или наличие кровотечения)

отсутствие клинического ответа: количество тромбоцитов  $< 30 \times 10^9/\text{л}$  или менее чем 2-кратное увеличение относительно исходного уровня или наличие кровотечения.

Показатели клинического ответа будут оцениваться только для визитов, в которых выполняется оценка количества тромбоцитов и степени кровотечения при ИТР (за исключением подтверждающих оценок тромбоцитов, которые могут быть получены во время любого визита [запланированного или внепланового] при условии, что они соответствуют приведенным ниже критериям). Для определения клинического ответа количество тромбоцитов должно быть подтверждено в 2 независимых случаях с интервалом не менее 7 дней (т. е. вторая оценка должна быть выполнена через  $\geq 168$  часов после первой оценки). Время до ответа определяют как время до первой оценки количества тромбоцитов (полученной в то же время, что и соответствующая оценка кровотечения при ИТР). Если вторая оценка не соответствует необходимым критериям для клинического ответа, то при соответствующих посещениях субъект считается не отвечающим на лечение. Для определения клинического ответа (или отсутствия клинического ответа) количество тромбоцитов должно быть подтверждено в 2 отдельных случаях. Отсутствие кровотечения имеет степень 0 для всех доменов SMOG. Наличие кровотечения имеет степень 1 или выше по меньшей мере для одного домена SMOG.

### **Оценка кровотечения при ИТР**

Международная рабочая группа по ИТР в настоящее время предлагает согласованный ИТР-специфический инструмент оценки кровотечений (ИТР-ВАТ),

основанный на точном определении проявлений кровотечений и классификации их тяжести (Rodeghiero et al, 2013, Standardization of bleeding assessment in immune thrombocytopenia: report from the International Working Group. Blood. 121(14):2596-606.).

Оценка кровотечений при ИТР может быть выполнена с помощью инструмента ИТР-ВАТ версии 1.0. Оценка будет проводиться в соответствии с графиком выполнения оценки во время исследования.

проявления кровотечения сгруппированы по 3 основным доменам: кожа (S), видимые слизистые оболочки (M) и органы (O) с градацией тяжести (SMOG). Каждое проявление кровотечения оценивается во время обследования. Степень тяжести оценивается в балах от 0 до 3 или 4, где балл 5 соответствует случаю появления любого смертельного кровотечения. Кровотечение, о котором сообщил субъект, не отраженное в медицинской карте, оценивается равным 1.

В каждом домене одинаковый балл присваивается проявлениям кровотечения со схожим клиническим воздействием. Оценивается «наихудшее» проявление кровотечения после последнего посещения в период наблюдения, и регистрируется наивысший балл в каждом домене. Система SMOG обеспечивает последовательное описание фенотипа кровотечения при ИТР.

Для облегчения сбора информации и общения врачей между собой и с исследователями используется стандартизованная форма сбора данных. Оценка симптомов кровотечения при появлении и при каждой последующей оценке представлена на фиг. 4.

#### **Промежуточные результаты исследования TP0001 (с розаноликсизумабом - UCSB7665) у пациентов с иммунной тромбоцитопенией**

Результаты согласно промежуточным данным, полученным в исследовании TP0001 (исследование в настоящее время продолжается с дозами 10, 15 и 20 мг/кг).

В исследовании изначально тестировали 2 дозы; группы, получавшие 4 мг/кг и 7 мг/кг, по 15 пациентов на группу (всего 30 пациентов). Эти пациенты завершили исследование. На основании результатов, полученных для этих доз, было запланировано введение дополнительных доз (10 мг/кг, две дозы), 15 мг/кг (одна доза) и 20 мг/кг (одна доза). На сегодняшний день 6 пациентов успешно прошли лечение дозой 10 мг/кг.

**Промежуточные результаты:** Данные, полученные на сегодняшний день для пациентов в первоначально разработанном исследовании (группы, получавшие 4 мг/кг и 7 мг/кг, которые завершили исследование), указывают на положительный результат фазы 2а этого исследования в отношении безопасности и переносимости и положительного сигнала относительно эффективности.

#### **Безопасность и переносимость**

UCSB7665 хорошо переносился после введения нескольких доз; лечение не было прекращено из-за ТЕАЕ или ТЕАЕ, ведущих к смертельному исходу.

**Фармакодинамика:** В промежуточном анализе максимальное среднее уменьшение уровня общего IgG наблюдали в день 29 в группе 4 мг/кг (43,6%, диапазон

21,9-68,6) и в день 22 в группе 7 мг/кг (50,5%, 35,7-65,5) (фиг. 5).

Данные на сегодняшний день указывают на максимальное среднее уменьшение уровня общего IgG, которое наблюдали в день 15 в группе 10 мг/кг (фиг. 5), исследование продолжается.

### **Эффективность (реакция тромбоцитов)**

Клинически значимые улучшения в количестве тромбоцитов наблюдали, используя разные критерии ответа (см. таблицу ниже и фиг. 6, на котором показано среднее количество тромбоцитов только для пациентов с ответом на лечение). Критерий 1 ответа, включающий количество тромбоцитов  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  и по меньшей мере 2-кратное увеличение исходного уровня, получали из руководства EMA 2014 (Guideline on the clinical development of medicinal products intended for the treatment of chronic primary immune thrombocytopenia, 20 February 2014 EMA/CHMP/153191/2013 Oncology Working Party), критерий 2 ответа (количество тромбоцитов  $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$  во время исследования) является общепризнанным в качестве клинически значимого ответа, а также критерия ответа, используемого для регистрации ИТР в исследованиях согласно FDA. Критерий 3 ответа (количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ ) получен из определения «полного ответа» согласно руководству EMA для ИТР от 2014 года. На основании этих промежуточных результатов UCB7665 имеет модулированные показатели, клинически релевантные и релевантные с точки зрения регулирующих стандартов. Субъекты с ответом на лечение, получавшие в исследовании дополнительные препараты для купирования симптомов (такие как IV Ig или ТРО), были вычтены из оценки.

|                                                                                                                                                      | Общее количество<br>пациентов - 15 | Общее количество<br>пациентов - 15 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <b><u>Реакция тромбоцитов</u></b>                                                                                                                    | <b><u>4 мг/кг (n/%)</u></b>        | <b><u>7 мг/кг (n/%)</u></b>        |
| <b>1. Критерий ответа:</b><br>количество $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$ и по меньшей мере<br>2-кратное увеличение относительно<br>исходного значения | 7 (46,7)                           | 8 (53,3)                           |
| <b>2. Критерий ответа:</b><br>количество $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ во время<br>исследования                                                     | 5 (33,3)                           | 5 (33,3)                           |
| <b>3. Критерий ответа:</b><br>Полный ответ: количество тромбоцитов $\geq$<br>$100 \times 10^9/\text{л}$                                              | 4 (26,7)                           | 2 (13,3)                           |

На фиг. 6 показано среднее количество тромбоцитов (только для субъектов с ответом на лечение) для доз 4 мг/кг, 7 мг/кг и 10 мг/кг (исследование с дозой 10 мг/кг продолжается). Предварительные данные по дозе 10 мг/кг, полученные к настоящему времени, позволяют предположить, что у субъектов с ответом на лечение среднее

количество тромбоцитов выше, чем у субъектов с ответом на лечение, получавших дозы 4 и 7 мг/кг.

Исследование продолжается, и в настоящее время оцениваются более высокие дозы: (10 мг/кг, две дозы), 15 мг/кг (одна доза) и 20 мг/кг (одна доза).

#### **Эффективность реакции тромбоцитов (обновление для 10 мг/кг)**

Данные по эффективности для 10 мг/кг (две дозы) приведены в таблице ниже. Клинически значимые улучшения в количестве тромбоцитов наблюдали, используя разные критерии ответа.

|                                                                                                                                                |                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
|                                                                                                                                                | Общее количество пациентов - 12 |
| <b><u>Реакция тромбоцитов</u></b>                                                                                                              | <b><u>10 мг/кг (n/ %)</u></b>   |
| <b>1. Критерий ответа:</b><br>количество $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$ и по меньшей мере 2-кратное увеличение относительно исходного значения | 6 (50)                          |
| <b>2. Критерий ответа:</b><br>количество $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ во время исследования                                                  | 6 (50)                          |
| <b>3. Критерий ответа:</b><br>Полный ответ: количество тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$                                             | 4 (33,3)                        |

Исследование продолжается, и в настоящее время оценивают более высокие дозы: 15 мг/кг (одна доза) и 20 мг/кг (одна доза).

На фиг. 7 показано уменьшение относительно исходного уровня (среднее уменьшение уровня IgG) после нескольких введений UCB7665 в дозах 4, 7, 10 мг/кг и однократного введения дозы 15 мг/кг. Данные на сегодняшний день указывают на максимальное среднее уменьшение уровня общего IgG, которое наблюдали в день 8 для группы 15 мг/кг (12 пациентов) (фиг. 7).

Предварительные данные для дозы 15 мг/кг, полученные к настоящему времени, позволяют предположить, что у субъектов с ответом на лечение реакции тромбоцитов являются по меньшей мере сопоставимыми с теми, которые наблюдали для дозы 10 мг/кг.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопенической пурпуры (ИТП) у человека, включающий введение человеку от 1 до 5 доз анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель, где суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг.

2. Анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент для применения при лечении или профилактике иммунной (идиопатической) тромбоцитопенической пурпуры (ИТП) у человека, включающем введение человеку от 1 до 5 доз антитела или антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель, где суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг.

3. Применение анти-FcRn антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для производства лекарственного средства для лечения или профилактики иммунной (идиопатической) тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), включающего введение от 1 до 5 доз антитела или антигенсвязывающего фрагмента в течение периода лечения от 1 до 12 недель, где суммарная доза во время лечения находится в диапазоне от 1 до 30 мг на кг.

4. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-3, где антитело или его связывающий фрагмент содержит:

а. тяжелую цепь или фрагмент тяжелой цепи, имеющий вариабельную область, где указанная вариабельная область содержит три CDR, имеющие последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 1 для CDR H1, SEQ ID NO: 2 для CDR H2 и SEQ ID NO: 3 для CDR H3, и

б. легкую цепь или фрагмент легкой цепи, имеющий вариабельную область, где указанная вариабельная область содержит три CDR, имеющие последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 4 для CDR L1, SEQ ID NO: 5 для CDR L2 и SEQ ID NO: 6 для CDR L3.

5. Способ, анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-4, где антитело или его связывающий фрагмент является гуманизированным.

6. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-5, где анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:29, или FcRn-специфическую последовательность, идентичную ей по меньшей мере на 80%.

7. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-6, где анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:15, или FcRn-специфическую последовательность, идентичную ей по меньшей мере на 80%.

8. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из п. 4 или п. 5, где анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, имеющую

последовательность, приведенную в SEQ ID NO:29, и последовательность вариабельного домена легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 15.

9. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-8, где связывающий фрагмент антитела представляет собой фрагмент scFv, Fv, Fab или Fab'.

10. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 9, где анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 36, и легкую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 22.

11. Способ, анти-FcRn антитело или применение по любому из пп. 1-7, где антитело представляет собой полноразмерное антитело.

12. Способ, анти-FcRn антитело или применение по п. 11, где полноразмерное антитело выбирают из группы, состоящей из IgG1, IgG4 и IgG4P.

13. Способ, анти-FcRn антитело или применение по п. 11 или п. 12, где анти-FcRn антитело имеет тяжелую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:72 или SEQ ID NO:87, или SEQ ID NO:43, и легкую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:22.

14. Способ, анти-FcRn антитело или применение по п. 11, 12 или 13, где анти-FcRn антитело представляет собой UCB7665 (розаноликсизумаб).

15. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-8, где антитело или его связывающий фрагмент представляет собой Fab-dsFv, имеющий тяжелую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 50, и легкую цепь, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 46 или SEQ ID NO: 78.

16. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-15, имеющее сродство связывания с человеческим FcRn, составляющее 100 пМ или менее.

17. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 16, где сродство связывания с человеческим FcRn составляет 100 пМ или менее, измеренное при pH 6 или при pH 7,4.

18. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-17, где антитело или его связывающий фрагмент представлены в виде фармацевтической композиции, содержащей один или более фармацевтически приемлемых наполнителей, разбавителей или носителей.

19. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 18, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более других активных агентов.

20. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-19, где лечение представляет собой период длительностью 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель.



21. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 20, где лечение представляет собой период длительностью 1, 2, 3, 4 или 5 недель.

22. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-21, где вводят 1, 2, 3, 4 или 5 доз антитела или связывающего фрагмента, и каждая доза составляет от 4 мг/кг до 30 мг/кг.

23. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 22, где каждая доза составляет 4 мг/кг, например, вводимая в виде пяти отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего пять недель, в частности пять последовательных недель.

24. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 22, где каждая доза составляет 7 мг/кг, например, вводимая в виде трех отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего три недели, в частности три последовательные недели.

25. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 22, где каждая доза составляет 10 мг/кг, например, вводимая в виде двух отдельных доз, в частности, в течение периода лечения, составляющего две недели, в частности две последовательные недели.

26. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 22, где вводят одну дозу.

27. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 26, где доза составляет 15 мг/кг.

28. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 26, где доза составляет 20 мг/кг.

29. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 26, где доза составляет 25 мг/кг.

30. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по п. 26, где доза составляет 30 мг/кг.

31. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-30, где суммарную дозу выбирают из 10, 15, 20, 21, 25 и 30 мг/кг.

32. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-31, где анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент вводят подкожно или внутривенно.

33. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-32, где анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент блокирует связывание человеческого IgG с человеческим FcRn.

34. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-33, где анти-FcRn антитело или его связывающий фрагмент не связывается с  $\beta 2$  микроглобулином.

35. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-34, где способ дополнительно включает введение одной или более дополнительных доз, которые меньше начальной дозы.

36. Способ, анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или применение по любому из пп. 1-34, где анти-FcRn антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с эпитопом человеческого FcRn, который содержит по меньшей мере одну аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из остатков V105, P106, T107, A108 и K109 SEQ ID NO:94, и по меньшей мере один остаток, например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков, выбранных из группы, состоящей из P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 и E133 SEQ ID NO:94.

По доверенности

## ФИГ. 1

Последовательности Ab CA170\_1519

## CDRH1

GFTFSNYGMV SEQ ID NO: 1

## CDRH2

YIDSDGDNTYYRDSVKG SEQ ID NO: 2

## CDRH3

GIVRPFLY SEQ ID NO: 3

## CDRL1

KSSQSLVGASGKTYLY SEQ ID NO: 4

## CDRL2

LVSTLDS SEQ ID NO: 5

## CDRL3

LQGTHFPHT SEQ ID NO: 6

VL область крысиного Ab 1519 SEQ ID NO: 7

DVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQMSGQSPK  
 RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP  
 HTFGAGTKLE LK

VL область крысиного Ab 1519 SEQ ID NO: 8

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg cccttggaca  
 accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg  
 gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag  
 cgactaatct atctgggtgtc cacactggac tctggaattc ctgatagggt  
 cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg  
 aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct  
 cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa

VL область крысиного Ab 1519 с сигнальной последовательностью, SEQ ID NO: 9  
 которая подчеркнута и выделена курсивом

*MMSPAQFLFL LMLWIQGTSG* DVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV  
 GASGKTYLYW LFQMSGQSPK RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI  
 RRVEADDLGV YYCLQGTHFP HTFGAGTKLE LK

VL область крысиного Ab 1519 с сигнальной последовательностью,  
которая подчеркнута и выделена курсивом

SEQ ID NO: 10

atgatgagtc ctgcccagtt cctgtttctg ctgatgctct ggattcaggg  
aaccagtggg gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg  
cccttgga accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gaggctcgta  
ggtgctagtg gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca  
gtctccaaag cgactaatct atctgggtgc cactactggac tctggaattc  
ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc  
cgagagtg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag  
acattttcct cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa

VH область крысиного Ab 1519 SEQ ID NO: 11

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVS GFTFS NYGMVWRQA PKKGLEWVAY  
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI  
VRPFLYWGG TTVTVS

VH область крысиного Ab 1519 SEQ ID NO: 12

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc  
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca  
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat  
attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg  
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaattg  
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggtt  
gtccggccct ttctctattg gggccaagga accacggtca ccgtctcg

VH область крысиного Ab 1519 с сигнальной последовательностью, которая  
подчеркнута и выделена курсивом

SEQ ID NO: 13

MDISLSLAFL VLFIKGVRCE VPLVESGGGS VQPGRSMKLS CVVSGFTFSN  
YGMVWRQAP KKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RNNAKSTLYL  
QMDSLRSED TATYYCTTGIV RPFLYWGGT TTVTVS

VH область крысиного Ab 1519 с сигнальной последовательностью, которая  
подчеркнута и выделена курсивом

SEQ ID NO: 14

atggacatca gtctcagctt ggctttcctt gtccttttca taaaagggtg  
ccggtgtgag gtgccgctgg tggagtctgg gggcggctca gtgcagcctg  
ggaggtccat gaaactctcc tgtgtagtct caggattcac tttcagtaat  
tatggcatgg tctgggtccg ccaggctcca aagaagggtc tggagtgggt  
cgcatatatt gattctgatg gtgataatac ttactaccga gattccgtga  
agggccgatt cactatctcc agaaataatg caaaaagcac cctatatattg  
caaatggaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaac  
agggattgtc cggccctttc tctattgggg ccaaggaacc acggtcaccg  
tctcg

## ФИГ. 1В

V-область gL20 1519 SEQ ID NO: 15

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK  
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP  
HTFGQGTKLE IK

V-область gL20 1519 (экспрессия в *E. coli*) SEQ ID NO: 16

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga  
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctgggtg ggtgcaagcg  
gcaaaacctta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa  
cgcctgatct atctgggtgtc taccctggat agcgggtattc cgtctcgttt  
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc  
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg  
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaa

V-область gL20 1519

(экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 17

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga  
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg  
gcaagacctta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa  
cggctgatct atctgggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt  
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcacgcgtgc  
aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcattttccct  
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa

V-область gL20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в *E. coli*)

SEQ

ID NO: 18

MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ ADIQMTQSPS SLSASVGDRV TITCKSSQSL  
VGASGKTYLY WLFQKPGKAP KRLIYLVSTL DSGIPSRFSG SSGTEFTLT  
ISSLQPEDFA TYYCLQGTHF PHTFGQGTKL EIK

V-область gL20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в *E. coli*)

SEQ

ID NO: 19

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggtcg gtttcgctac  
cgtagcgcaa gctgatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg  
ccagcgtagg cgatcgtgtg actattacct gtaaaagctc ccagtccttg  
gtgggtgcaa gcggcaaaac ctacctgtac tggctcttcc agaaaccggg  
caaagctccg aaacgcctga tctatctgggt gtctaccctg gatagcggta  
ttccgtctcg tttctccggt agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc  
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg  
cactcatttt ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaa

## ФИГ. 1С

V-область gL20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 20

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKSSQSLV  
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI  
SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGTKLE IK

V-область gL20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 21

atgtctgtcc ccaccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga  
tgccagatgc gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt  
ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg  
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa  
ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac  
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt  
tcatcgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac  
tcatttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa

Легкая цепь gL20 1519

(V+константные участки)

SEQ ID NO: 22

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK  
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP  
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK  
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE  
VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

Легкая цепь gL20 1519

(V+константные участки, экспрессия в E. coli)

SEQ ID NO: 23

gatatccaga tgaccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga  
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg  
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa  
cgcctgatct atctggtgtc taccctggat agcgggtattc cgtctcgttt  
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc  
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg  
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc  
cccatctgtc ttcactttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa  
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa  
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag  
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc  
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa  
gtcaccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgt

## ФИГ. 1D

Легкая цепь gL20 1519 (V+константные участки,  
экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 24

```

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctgggtg ggtgcaagcg
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa
cgcctgatct atctgggtgtc taccctggat agcgggtattc cgtctcgttt
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact ccagagagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt

```

Легкая цепь gL20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в *E. coli*)

SEQ ID NO: 25

```

MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ ADIQMTQSPS SLSASVGDRV TITCKSSQSL
VGASGKTYLY WLFQKPGKAP KRLIYLVSTL DSGIPSRFSG SGSGTEFTLT
ISSLQPEDFA TYYCLQGTHF PHTFGQGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ
LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS
LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

```

Легкая цепь gL20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в *E. coli*)

SEQ ID NO: 26

```

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggctg gtttcgctac
cgtagcgcaa gctgatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg
ccagcgtagg cgatcgtgtg actattacct gtaaaagctc ccagtccttg
gtgggtgcaa gcggcaaaac ctacctgtac tggctcttcc agaaaccggg
caaagctccg aaacgcctga tctatctggg gtctaccctg gatagcggta
ttccgtctcg tttctccggg agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg
cactcatttt ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaac
gtacggtagc ggccccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag
ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc
cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtga taacgccctc caatcgggta
actccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt
ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcacca gtaacaaaaa
gttttaatat aggggagtg

```

## ФИГ. 1Е

Легкая цепь gL20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 27

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV  
 GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI  
 SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL  
 KSGTASVVCL LNNFYBREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL  
 SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

Легкая цепь gL20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 28

atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga  
tgccagatgc gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt  
 ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg  
 ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa  
 ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac  
 cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt  
 tcatcgtctg aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac  
 tcattttcct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta  
 cggtagcggc cccatctgtc ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg  
 aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag  
 agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact  
 cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc  
 agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta  
 cgcttgcgaa gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct  
 tcaacagggg agagtgt

V-область gH20 1519 SEQ ID NO: 29

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY  
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI  
 VRPFLYWGQG TLVTVS

V-область gH20 1519 (экспрессия в E. coli) SEQ ID NO: 30

gaggttccgc tggtcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag  
 cctgcgtctc tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta  
 tgggtgtgggt tcgtcaggct ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat  
 attgactccg acggcgacaa cacctactat cgcgactctg tgaaaggctcg  
 cttcaccatt tcccgcgata acgcaaatac cagcctgtac ctgcagatga  
 acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc  
 gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgta ctgtctcg



**ФИГ. 1F** (сигнальные последовательности подчеркнуты и выделены курсивом)

V-область gH20 1519

(экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 31

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag  
 ttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa  
 tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat  
 attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg  
 cttcacaaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga  
 atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
 gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcg

V-область gH20 1519 (экспрессия в E. coli) SEQ ID NO: 32

MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ AEVPLVESGG GLVQPGGSLR LSCAVSGFTF  
 SNYGMVWVRQ APGKGLEWVA YIDSDGDNTY YRDSVKGRFT ISRDNAKSSL  
 YLQMNSLRAE DTA VYYCTTG IVRPFlyWGQ GTLVTVS

V-область gH20 1519 (экспрессия в E. coli) SEQ ID NO: 33

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac  
cgtggcgcaa gctgagggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgtcc  
 agcctggagg gagcctgcgt ctctcttctg cagtatctgg cttcacgttc  
 tccaactacg gtatgggtgtg ggttcgtcag gctccaggta aaggctctga  
 atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac tatcgcgact  
 ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcca atccagcctg  
 tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg  
 caccactggc atcgtgcgtc cgtttctgta ttgggggtcag ggtaccctcg  
 ttactgtctc g

V-область gH20 1519

(экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 34

MEWSWVFLFF LSVTGTVHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN  
 YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNAAKSSLYL  
 QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFlyWGQGT LTVTS

V-область gH20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 35

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt  
ccattctgag gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg  
 gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat  
 tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt  
 ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga  
 aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
 cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac  
 gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttgggttactg tctcg

## ФИГ. 1G

Тяжелая цепь Fab' 1519gH20

(V+CH1 человеческого гамма-1+шарнирная область)

SEQ ID NO: 36

```

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
VRPFLYWQGQ TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC
NVNHNKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHITCAA

```

Тяжелая цепь Fab' 1519gH20

(V+CH1 человеческого гамма-1+шарнирная область, экспрессия в E.coli)

SEQ ID

NO: 37

```

gaggttccgc tggctcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag
cctgcgtctc tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta
tggtgtgggt tcgtcaggct ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat
attgactccg acggcgacaa cacctactat cgcgactctg tgaaaggctcg
cttcaccatt tcccgcgata acgccaatc cagcctgtac ctgcagatga
acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat cgtcttccc cctggcacc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg

```

Тяжелая цепь Fab' 1519gH20

(V+CH1 человеческого гамма-1+шарнирная область, экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ

ID NO: 38

```

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggtta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat cgtcttccc cctggcacc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg

```

## ФИГ. 1Н

Тяжелая цепь Fab' gH20 1519 с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в E.coli)

SEQ ID NO: 39

МККТАИАИАВ АЛАГФАТВАQ AEVPLVESGG GLVQPGGSLR LSCAVSGFTF  
 SNYGMVWVRQ APGKGLEWVA YIDSDGDNTY YRDSVKGRFT ISRDNAKSSL  
 YLQMNSLRAE DTAVYYCTTG IVRPFLYWGO GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL  
 YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCAA

Тяжелая цепь Fab' gH20 1519 с сигнальной последовательностью,  
 которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 40

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac  
 cgtggcgcaa gctgaggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttggtcc  
 agcctggagg gagcctgcgt ctctcttggt cagtatctgg cttcacgttc  
 tccaactacg gtatgggtgtg gggtcgtcag gctccaggta aaggctctgga  
 atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac tatcgcgact  
 ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg  
 tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg  
 caccactggc atcgtgcgtc cgtttctgta ttgggggtcag ggtaccctcg  
 ttactgtctc gagcgcttct acaaagggcc catcgggtctt ccccctggca  
 ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca gcggccctgg gctgcctggt  
 caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac tcaggcgccc  
 tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc  
 tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca  
 gacctacatc tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtcgaca  
 agaaagttga gcccaaattct tgtgacaaaa ctcacacatg cgccgcg

Тяжелая цепь Fab' gH20 1519 с сигнальной последовательностью,  
 которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 41

MEWSVFLFF LSVTTGVBHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN  
 YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNAKSSLYL  
 QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS  
 SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS  
 LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCAA

## ФИГ. 11

Тяжелая цепь Fab' gH20 1519 с сигнальной последовательностью,  
которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 42

*atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt*  
*ccattctgag* gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg  
 gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat  
 tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt  
 ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga  
 aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
 cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac  
 gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg  
 tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc  
 tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tgggtcaagga  
 ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc gccctgacca  
 gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc  
 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta  
 catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gacaagaaag  
 ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcgccgc g

Тяжелая цепь IgG4 1519gH20  
(V+константные области человеческого гамма-4P)

SEQ ID NO: 43

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY  
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI  
 VRPFLYWQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF  
 PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTGPS SSLGKTYTC  
 NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI  
 SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV  
 SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP  
 SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS  
 FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

## ФИГ. 1J

Тяжелая цепь IgG4 1519gH20

(V+константные области человеческого гамма-4P, экзоны подчеркнуты)

SEQ ID

NO: 44

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag  
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa  
tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat  
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg  
cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga  
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag  
cgcttctaca aaggggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga  
gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc  
cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt  
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca  
gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc  
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga  
gaggccagca cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagccct  
cctgcctgga cgcaccccgg ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc  
atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc tctgaccacc cactcatgc  
ccagggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg gcagccacag  
gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc  
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaaagc  
ccaccccaaa ggccaaactc tccactcctt cagctcagac accttctctc  
ctcccagatc tgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg  
gtcccccattg cccaccatgc ccaggtaagc caaccaggc ctgcacctcc  
agctcaaggc gggacagggt ccctagagta gcctgcatcc agggacaggc  
cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttctc agcacctgag  
ttcctggggg gaccatcagt cttcctgttc cccccaaaac ccaaggacac  
tctcatgac tcccggacct ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga  
gccaggaaga ccccgagggt cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag  
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta  
ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca  
aggagtacaa gtgcaagggt tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag  
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacggggtgc gagggccaca  
tggacagagg tcagctcggc ccacctctg ccctgggagt gaccgctgtg  
ccaacctctg tccctacagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct  
gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc  
tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat  
gggcagccgg agaacaacta caagaccag cctcccgtgc tggactccga  
cggctccttc ttctcttaca gcaggctaac cgtggacaag agcagggtggc  
aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcattgggc tctgcacaac  
cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaa

## ФИГ. 1К

Тяжелая цепь IgG4 1519gH20 (V+константные области человеческого гамма-4Р, экзоны подчеркнуты) с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом SEQ ID NO: 45

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt  
ccattctgag gtaccacttg tggaagcgaggagggtctt gtgcagcctg  
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat  
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt  
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga  
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac  
gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg  
tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatccg tcttccccct ggcgcctcgc  
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tgggtcaagga  
ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca  
gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc  
ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta  
cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag  
ttgggtgagag gccagcacag ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct  
cagccctcct gcctggacgc accccggctg tgcagcccca gcccagggca  
gcaaggcatg ccccatctgt ctctcaccg ggaggcctct gaccacccca  
ctcatgcccc gggagagggg cttctggatt ttccaccag gctccgggca  
gccacaggct ggatgcccct accccaggcc ctgcgcatac aggggcagggt  
gctgcgctca gacctgcaa gagccatata cgggaggacc ctgcccctga  
cctaagcccc ccccaaaggc caaactctcc actccctcag ctcagacacc  
ttctctcctc ccagatctga gtaactccca atcttctctc tgcagagtcc  
aaatatgggt ccccatgccc accatgcccc ggtaagccaa cccaggcctc  
gccctccagc tcaaggcggg acagggtgcc tagagtagcc tgcattccagg  
gacaggcccc agccgggtgc tgacgcatcc acctccatct cttcctcagc  
acctgagttc ctggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca  
aggacactct catgatctcc cggacccttg aggtcacgtg cgtgggtgggtg  
gacgtgagcc aggaagaccc cgagggtccag ttcaactgggt acgtggatgg  
cgtggagggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca  
gcacgtaccg tgtgggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg  
aacggcaagg agtacaagtg caagggtctcc aacaaaggcc tcccgtcctc  
catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggaccac ggggtgcgag  
ggccacatgg acagagggtca gctcggccca ccctctgccc tgggagtgac  
cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca gcccagagag ccacagggtg  
acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg  
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga  
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg  
actccgacgg ctcttcttct ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc  
aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct  
gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa

## ФИГ. 1L

Легкая цепь FabFv 1519gL20 SEQ ID NO: 46

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK  
 RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP  
 HTFGQGKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK  
 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE  
 VTHQGLSSPV TKSFNREGES GGGGSGGGGS GGGGSDIQMT QSPSSVSASV  
 GDRVITITCQS SPSVWSNFLS WYQQKPGKAP KLLIYEASKL TSGVPSRFSG  
 SSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYYCGGGYSS ISDTTFGCGT KVEIKRT

Легкая цепь FabFv 1519gL20 SEQ ID NO: 47

gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga  
 tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg  
 gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa  
 cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt  
 ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc  
 aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcattttccct  
 cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc  
 cccatctgtc ttcactttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa  
 ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa  
 gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag  
 tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcacc  
 tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtg cgcctgcgaa  
 gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatagagg  
 ggagtgtagc ggtggcgggtg gcagtgggtg gggaggctcc ggaggtggcg  
 gttcagacat acaaatgacc cagagtcctt catcggtatc cgcgtccggt  
 ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc tctcctagcg tctggagcaa  
 ttttctatcc tgggtatcaac agaaaccggg gaaggctcca aaacttctga  
 tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag attcagtggc  
 tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc tgcaaccaga  
 ggactttgcg acctactatt gtggtggagg ttacagtagc ataagtgata  
 cgacatttgg gtgcggtact aaggtggaaa tcaaacgtac c

Легкая цепь FabFv 1519gL20 с сигнальной последовательностью,  
 которая подчеркнута и выделена курсивом

SEQ ID NO: 48

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV  
 GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI  
 SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL  
 KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL  
 SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGES GGGGSGGGGS  
 GGGGSDIQMT QSPSSVSASV GDRVITITCQS SPSVWSNFLS WYQQKPGKAP  
 KLLIYEASKL TSGVPSRFSG SSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYYCGGGYSS  
 ISDTTFGCGT KVEIKRT

# ФИГ. 1М

14/48

Легкая цепь FabFv 1519gL20 с сигнальной последовательностью,  
которая подчеркнута и выделена курсивом

SEQ ID NO:

49

*atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga*  
*tgccagatgc* gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt  
ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg  
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa  
ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac  
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt  
tcatcgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac  
tcatttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta  
cggtagcggc cccatctgtc ttcactttcc cgccatctga tgagcagttg  
aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag  
agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact  
cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg  
agcagcacc tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtg  
cgcttgcgaa gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt  
ttaatagagg ggagtgtagc ggtggcgggtg gcagtgggtg gggaggctcc  
ggagggtggcg gttcagacat acaaatgacc cagagtcctt catcggtatc  
cgcgtccgtt ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc tctcctagcg  
tctggagcaa ttttctatcc tggatatcaac agaaaccggg gaaggctcca  
aaacttctga tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag  
attcagtggc tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc  
tgcaaccaga ggactttgcg acctactatt gtggtggagg ttacagtagc  
ataagtgata cgacatttgg gtgcggtact aaggtggaaa tcaaacgtac  
c

Тяжелая цепь FabFv 1519gH20 SEQ ID NO: 50

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY  
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI  
VRPFLYWQGQ TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF  
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC  
NVN HKPSNTK VDKKVEPKSC SGGGSGGGG TGGGGSEVQL LESGGGLVQP  
GGSLRLSCAV SGIDLSNYAI NWVRQAPGKC LEWIGIIWAS GTTFYATWAK  
GRFTISRDNS KNTVYLQMNS LRAEDTAVYY CARTVPGYST APYFDLWGQG TLVTVSS



Тяжелая цепь FabFv 1519gH20 SEQ ID NO: 51

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag  
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa  
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat  
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg  
cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga  
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag  
cgcgtccaca aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga  
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc  
cccgaaccag tgacgggtgtc gtggaactca ggtgccctga ccagcggcgt  
tcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac tccctgagca  
gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc  
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgataaga aagttgagcc  
caaatcttgt agtggagggtg ggggctcagg tggaggcggg accggtggag  
gtggcagcga ggttcaactg cttgagtctg gaggaggcct agtccagcct  
ggagggagcc tgcgtctctc ttgtgcagta agcggcatcg acctgagcaa  
ttacgccatc aactgggtga gacaagctcc ggggaagtgt ttagaatgga  
tcggtataat atgggccagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaaa  
ggaagggttta caattagccg ggacaatagc aaaaacaccg tgtatctcca  
aatgaactcc ttgcgagcag aggacacggc ggtgtactat tgtgctcgca  
ctgtcccagg ttatagcact gcaccctact tcgatctgtg gggacaaggg  
accctggtga ctgtttcaag t

Тяжелая цепь FabFv 1519gH20 с сигнальной последовательностью,  
которая подчеркнута и выделена курсивом

SEQ ID NO:

52

MEWSWVFLFF LSVTTGVHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN  
YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNAKSSLYL  
QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWQGT LTVVSSASTK GPSVFPLAPS  
SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS  
LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCS GGGGSGGGGT  
GGGGSEVQLL ESGGGLVQPG GSLRLSCAVS GIDLSNYAIN WVRQAPGKCL  
EWIGIIWASG TTFYATWAKG RFTISRDN SK NTVYLQMNSL RAEDTAVYYC  
ARTVPGYSTA PYFDLWGQGT LTVVSS

## ФИГ. 1Р

Тяжелая цепь FabFv 1519gH20

с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом SEQ ID NO:

53

*atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt*  
*ccattctgag* gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg  
 gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat  
 tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt  
 ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga  
 aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
 cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac  
 gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg  
 tctcgagcgc gtccacaaag ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc  
 tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tgggtcaagga  
 ctacttcccc gaaccagtga cgggtgtcgtg gaactcaggt gccctgacca  
 gcggcggttc caccttcccc gctgtcctac agtcttcagg actctactcc  
 ctgagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta  
 catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gataagaaag  
 ttgagcccaa atcttgtagt ggaggtgggg gctcaggtgg aggcgggacc  
 ggtggaggtg gcagcgaggt tcaactgctt gagtctggag gaggcctagt  
 ccagcctgga gggagcctgc gtctctcttg tgcagtaagc ggcacgcacc  
 tgagcaatta cgccatcaac tgggtgagac aagctccggg gaagtgttta  
 gaatggatcg gtataatatg ggccagtggg acgacctttt atgctacatg  
 ggcgaaagga aggtttacaa ttagccggga caatagcaaa aacaccgtgt  
 atctccaaat gaactccttg cgagcagagg acacggcggg gtactattgt  
 gctcgactg tcccaggtta tagcactgca ccctacttcg atctgtgggg  
 acaagggacc ctggtgactg tttcaagt

Акцепторный каркасный участок JK2 2-1-(1)

A30 человеческого VK1

SEQ ID NO: 54

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA  
 ASSLQSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPYTFGQ GTKLEIK

Акцепторный каркасный участок JK2 2-1-(1)

A30 человеческого VK1

SEQ ID NO: 55

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga  
 cagagtcacc atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag  
 gctggtatca gcagaaacca gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct  
 gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca aggttcagcg gcagtggatc  
 tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct gaagattttg  
 caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccttacac ttttggccag  
 gggaccaagc tggagatcaa a

## ФИГ. 1Q

Акцепторный каркасный участок JH4 1-3 3-07  
человеческого VH3

SEQ ID NO: 56

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMSWVRQA PGKGLEWVAN  
IKQDGSEKYY VDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARYF  
DYWGQGTLLV VS

Акцепторный каркасный участок JH4 1-3 3-07  
человеческого VH3

SEQ ID NO: 57

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc  
cctgagactc tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga  
tgagctgggt ccgccaggct ccaggggaagg ggctggagtg ggtggccaac  
ataaagcaag atggaagtga gaaatactat gtggactctg tgaagggccg  
attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat ctgcaaatga  
acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatacttt  
gactactggg gccagggaac cctgggtcacc gtctcc

VL область крысиного Ab 1548 SEQ ID NO: 58

DVVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQSRGQSPK  
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP  
HTFGAGTKLE IK

VL область крысиного Ab 1548 SEQ ID NO: 59

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttggaca  
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg  
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag  
cgactaatct atctgggtgtc cacactggac tctggaattc ctgatagggt  
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg  
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct  
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ataaaa

VH область крысиного Ab 1548 SEQ ID NO: 60

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVS GFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY  
IDSDGDNTRY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI  
VRPFLYWGGG VMVTVS

## ФИГ. 1R

VH область крысиного Ab 1548 SEQ ID NO: 61

```
gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaattgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctattg gggccaagga gtcatggtca cagtctcg
```

VL область крысиного Ab 1644 SEQ ID NO: 62

```
DVVMQTPLS LSVAIGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQMSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE LK
```

VL область крысиного Ab 1644 SEQ ID NO: 63

```
gatgttggtga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg ccattggaca
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctgggtgc cacactggac tctggaattc ctgataggtt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa
```

VH область крысиного Ab 1644 SEQ ID NO: 64

```
EVPLVESGGG SVQPGRSTKL SCVVSQFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IGSDGDNIYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGGG TTVTVS
```

VH область крысиного Ab 1644 SEQ ID NO: 65

```
gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
cacgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attggttctg atggtgataa tatttactac cgagattccg tgaagggtcg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaattgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctactg gggccaagga accacggtca ccgtctcg
```

## ФИГ. 1S

VK область крысиного Ab 1496 SEQ ID NO: 66

DVVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQMSGQSPK  
 RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP  
 HTFGAGTKLE LK

VK область крысиного Ab 1496 SEQ ID NO: 67

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcgggtg cccttgagaca  
 accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg  
 gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag  
 cgactaatct atctgggtgtc cacactggac tctggaattc ctgatagggt  
 cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg  
 aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct  
 cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa

VN область крысиного Ab 1496 SEQ ID NO: 68

EVLIVESGGG SVQPGRSMKL SCVMSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY  
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI  
 VRPFLYWGQG TMVTVS

VN область крысиного Ab 1496 SEQ ID NO: 69

gaggtgctgc tgggtggagtc tgggggaggc tcagtgcagc ctgggaggtc  
 catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca  
 tgggtctgggt ccgcccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat  
 attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg  
 attcactatc tccagaaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaattg  
 acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt  
 gtccggccct ttctctattg gggccaagga accatggtca ccgtctcg

Тяжелая цепь IgG1 1519gH20

(V+константные области человеческого гамма-1)

SEQ ID NO:72

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVMSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY IDSDGDNTYY  
 RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI VRPFLYWGQG TLVTVSSAST  
 KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY  
 SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKHTCPPCP APELLGGPSV  
 FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY  
 RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSRDELTK  
 NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG  
 NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK

## ФИГ. 1Т

Тяжелая цепь IgG1 1519gH20

(V+константные области человеческого гамма-1, экзоны подчеркнуты)

SEQ ID

NO: 73

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc  
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca  
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat  
cgggattccg tgaaggagc cttcacaaatc tcccgagata acgccaagag ctactgtac  
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca  
aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg  
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca  
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac  
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc  
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttggtga gaggccagca  
cagggaggga ggggtgtctgc tggaaaccag gctcagcgt cctgcctgga cgcattcccgg  
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc agggcccgtc tgctcttca cccggaggcc  
tctgcccgcc ccactcatgc tcagggagag ggtcttcttg ctttttcccc aggctctggg  
caggcacagg ctaggtgccc ctaaccagg cctgcacac aaaggggag gtgctgggct  
cagacctgcc aagagccata tccgggagga cctgcccct gacctaaagg caccctaaag  
gccaaactct ccactccctc agctcggaca cttctctctc tccagatct gagtaactcc  
caatcttctc tctgcagagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc  
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacagggtgcc ctagagtagc  
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttctcag  
cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcttcttccc cccaaaaccc aaggacaccc  
tcatgatctc ccggacccct gaggtcacat gcgtgggtgg ggacgtgagc cacgaagacc  
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc  
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc  
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaagggtct caacaaagcc ctcccagccc  
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tgggggtgca gggccacatg  
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacctctgtc  
cctacagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc cccatccccg ggatgagctg  
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc  
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg  
gactccgacg gtccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag  
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag  
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa

# ФИГ. 1U

21/48

Тяжелая цепь IgG1 1519gH20 (V+константные области человеческого гамма-1)  
с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута  
и выделена курсивом SEQ ID NO: 74

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag  
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct  
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct  
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg  
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt  
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag  
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc  
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc  
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc  
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctt catctgcaac  
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag  
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgtcctt gcttgagcgc atcccggcta  
tgcagcccca gtccagggca gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccc ggaggcctct  
gcccggccca ctcatgctca gggagagggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag  
gcacaggcta ggtgcccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcaggtg ctgggctcag  
acctgccaag agccatatcc gggaggacct tgcccctgac ctaagcccac cccaaaggcc  
aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatctgag taactccaa  
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgccagg  
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg  
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac  
ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag gacaccctca  
tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagacctg  
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc  
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcacgctc ctgcaccagg  
actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca  
tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggt ggaccggtgg ggtgcgaggg ccacatggac  
agaggccggc tcggcccacc ctctgccttg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtcctt  
acagggcagc cccgagaacc acagggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc  
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg  
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac  
tccgacggct ccttcttctt ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag  
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cacgcagaag  
agcctctccc tgtctccgggtaaa

Легкая цепь gL20 1519

(V+константные области, альтернативная экспрессия в клетках млекопитающего) SEQ ID NO: 75

```

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg
gcaagaccta tctgtactgg ctcttttcaga agcctggcaa ggcaccaaaa
cggctgatct atctgggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc
aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcactttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt

```

тяжелая цепь Fab' 1519gH20 (V+CH1 человеческого гамма-1+шарнирная область, экспрессия в клетках млекопитающего с одним измененным

основанием из SEQ ID NO: 38) SEQ ID NO: 76

```

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcagag
cgcttctaca aaggggcccat cgtcttccc cctggcacc tccctcaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg

```

тяжелая цепь Fab' gH20 1519 с сигнальной последовательностью,

которая подчеркнута и выделена курсивом (экспрессия в клетках млекопитающего с одним измененным основанием из SEQ ID NO: 42) SEQ ID NO: 77

```

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tgggtcaagga
ctacttcccc gaaccggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca
gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag
ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcgccgc g

```



# ФИГ. 1W

23/48

легкая цепь FabFv 1519gL20 (последовательность, альтернативная SEQ ID NO: 46) SEQ ID NO: 78

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV TKSFNREGCG GGGSGGGGSG GGGSDIQMTQ SPSSVSASVG
DRVITITCQSS PSVWSNFLSW YQKPGKAPK LLIYEASKLT SGVPSRFSGS
GGGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCGGGYSSI SDTTFGCGTK VEIKRT
```

легкая цепь FabFv 1519gL20 (последовательность, альтернативная SEQ ID NO: 47) SEQ ID NO: 79

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga
cagagtgacc atcacatgca agtctctcca gtccctggtc ggagcctccg
gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccggaag ggcccccaag
cggctgatct acctgggtgc taccctggac tccggcatcc cctcccgggtt
ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtagcggc
cccatctgtc ttcactcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact ccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg
agagtgtggt ggaggtggct ctggcggtgg tggctccgga ggcggaggaa
gcgacatcca gatgaccag agcccttct ctgtaagcgc cagtgtcggg
gacagagtga ctattacctg ccaaagctcc ccttcagtct ggtccaattt
tctatcctgg tatcagcaaa agcccggaag ggctcctaaa ttgctgatct
acgaagcaag caaactcacc agcggcggtc ccagcaggtt cagcggcagt
gggtctggaa ctgactttac cctgacaatc tcctcactcc agcccgagga
cttcgccacc tattactgcg gtggagggtta cagtagcata agtgatacga
catttggtatg cggcactaaa gtggaaatca agcgtacc
```

## ФИГ. 1X

тяжелая цепь FabFv 1519gH20 (последовательность, альтернативная SEQ ID NO: 51) SEQ ID NO: 80

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcgggcgga ctggtgcagc ctggcggctc
cctgagactg tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca
tggctctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaaggggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtea cctgttcctc
tgcttctaca aaggggccat cggtcttccc cctggcacc cctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctggtaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc tggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc
caaatcttgt tccggagggtg gcggttccgg aggtggcggg acaggtggcg
gtgggtccga agtccagctg cttgaatccg gaggcggact cgtgcagccc
ggaggcagtc ttcgcttggt ctgcgctgta tctggaatcg acctgagcaa
ttacgccatc aactgggtga gacaggcacc tgggaaatgc ctggaatgga
tcggcattat atgggctagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaag
ggtagattca caatctcacg ggataatagt aagaacacag tgtacctgca
gatgaactcc ctgcgagcag aggataccgc cgtttactat tgtgctcgca
ctgtcccagg ttatagcact gcaccctact ttgatctgtg ggggcagggc
actctggtca ccgtctcgtc c

```

**ФИГ. 1У** (сигнальные последовательности подчеркнуты и выделены курсивом)

VL область крысиного Ab 1548 (последовательность, альтернативная SEQ ID NO: 58) SEQ ID NO: 81

DVVMTQTPLS LSVAIGQPAS ISSKSSQSLV GAGGKTYLYW LLQRSGQSPK  
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP  
HTFGAGTNLE IK

VL область крысиного Ab 1548 (последовательность, альтернативная SEQ ID NO: 59) SEQ ID NO: 82

gatgttggtga tgaccagagac tccactgtct ttgtcgggtg ccattggaca  
accagcctcc atctcttcta agtcaagtca gagcctcgta ggtgctggtg  
gaaagacata tttgtattgg ttattacaga ggtccggcca gtctccaaag  
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgatagggt  
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg  
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct  
cacacgtttg gagctgggac caacctggaa ataaaa

VH область крысиного Ab 1548 (последовательность, альтернативная SEQ ID NO: 60) SEQ ID NO: 83

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVS GF TFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY  
IGSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI  
VRPFLYWGGG VMVTVS

VH область крысиного Ab 1548 (последовательность, альтернативная SEQ ID NO: 61) SEQ ID NO: 84

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc  
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca  
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat  
attggttctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg  
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg  
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt  
gtccggccct ttctctactg gggccaagga gtcattggtca cagtctcg

тяжелая цепь IgG1 1519gH20 (V+константные области человеческого гамма-1,  
подчеркнутые экзоны с одним измененным  
основанием в SEQ ID NO: 71) SEQ ID NO: 85

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc  
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca  
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat  
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac  
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca  
aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg  
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca  
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac  
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc  
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttggtga gaggccagca  
cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagcgt cctgcctgga cgcattcccg  
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc aggcccgctc tgctcttca cccggaggcc  
tctgcccgcc cactcatgc tcagggagag ggtcttctgg ctttttccc aggctctggg  
caggcacagg ctaggtgccc ctaaccagg cctgcacac aaaggggcag gtgctgggct  
cagacctgcc aagagccata tccgggagga cctgcccct gacctagcc caccctaaag  
gccaaactct cactccctc agctcggaca cttctctcc tcccagatct gagtaactcc  
caatcttctc tctgcagagc ccaaactctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc  
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacagggtgcc ctagagtagc  
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttcctcag  
cacctgaact cctgggggga ccgtcagctc tctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc  
tcatgatctc ccggacccct gaggtcacat gcgtgggtggg ggacgtgagc cacgaagacc  
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc  
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctgcacc  
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcccagccc  
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tgggggtgca gggccacatg  
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacctctgtc  
cctacagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc cccatcccg ggatgagctg  
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc  
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg  
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag  
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag  
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa

тяжелая цепь IgG1 1519gH20 (V+константные области человеческого гамма-1) с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута и выделена курсивом (изменение одного основания из SEQ ID NO:72)

SEQ ID NO:86

*atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag*  
*gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct*  
*tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct*  
*ggaaaggggtc ttgaatgggt ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg*  
*gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg*  
*cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt*  
*aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag*  
*ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc*  
*ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc*  
*gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc*  
*ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac*  
*gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag*  
*ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgtcctt gcctggacgc atcccggcta*  
*tgcagcccca gtccagggca gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccc ggaggcctct*  
*gcccgcccca ctcatgctca gggagagggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag*  
*gcacaggcta ggtgccccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggtg ctgggctcag*  
*acctgccaag agccatatcc gggaggacc tgcacctgac ctaagcccac ccaaaggcc*  
*aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatctgag taactcccaa*  
*tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagg*  
*taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg*  
*catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tctcagcac*  
*ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca*  
*tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg*  
*aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc*  
*gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg*  
*actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca*  
*tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggtg ggaccctggt ggtgcgaggg ccacatggac*  
*agaggccggc tcggcccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct*  
*acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc*  
*aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg*  
*gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac*  
*tccgacggct ctttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag*  
*gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag*  
*agcctctccc tgtctccgggtaaa*

тяжелая цепь IgG4 1519gH20 (V+константные области человеческого гамма-4 без Р мутаций) SEQ ID NO:87

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY  
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI  
 VRPFLYWQGQ TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF  
 PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGKTYTC  
 NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPSCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI  
 SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV  
 SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP  
 SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS  
 FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

## ФИГ. 1ВВ

Тяжелая цепь IgG4 1519gH20 (V+константные области человеческого гамма-4 без Р мутаций) SEQ ID NO:88

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag  
 ttacgtctc tcttgctgctg tgtctggcctt caccttctcc aattacggaa  
 tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat  
 attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg  
 cttcacaaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga  
 atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
 gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag  
 cgcttctaca aaggggccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga  
 gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc  
 cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt  
 gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca  
 gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc  
 aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga  
 gaggccagca cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagccct  
 cctgcctgga cgcaccccggt ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc  
 atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc tctgaccacc cactcatgc  
 ccagggagag ggtcttcttg atttttccac caggctccgg gcagccacag  
 gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc  
 tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaaagc  
 ccaccccaaa ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc  
 ctcccagatc tgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg  
 gtcccccatg cccatcatgc ccaggtaagc caaccaggc ctgcgccctc  
 agctcaaggc gggacagggt ccctagagta gcctgcatcc agggacaggc  
 ccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttctc agcacctgag  
 ttcttggggg gaccatcagt ctctctgttc ccccaaaaac ccaaggacac  
 tctcatgac tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga  
 gccaggaaga ccccagggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag  
 gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta  
 ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca  
 aggagtacaa gtgcaagggt tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag  
 aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacggggtgc gagggccaca  
 tggacagagg tcagctcggt ccacctctg ccctgggagt gaccgtgtg  
 ccaacctctg tccctacagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct  
 gccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc  
 tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat  
 gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga  
 cggctccttc ttcctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcagggtggc  
 aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcagaggc tctgcacaac  
 cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaa

## ФИГ. 1СС

тяжелая цепь IgG4 1519gH20 (V+константные области человеческого гамма-4)  
с сигнальной последовательностью, которая подчеркнута  
и выделена курсивом - без Р мутации SEQ ID NO:89

*atggaatgga gctgggtcctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt*  
*ccattctgag* gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtcct gtgcagcctg  
 gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat  
 tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt  
 ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga  
 aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
 cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac  
 gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttgggttactg  
 tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatccg tcttccccct ggcgccttgc  
 tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tgggtcaagga  
 ctacttcccc gaaccggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca  
 gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc  
 ctacgacgcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta  
 cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag  
 ttgggtgagag gccagcacag ggaggggaggg tgtctgctgg aagccagggt  
 cagccctcct gcctggacgc accccggctg tgcagcccca gcccagggca  
 gcaaggcatg ccccatctgt ctctcaccg ggaggcctct gaccaccca  
 ctcatgcca gggagagggg cttctggatt ttccaccag gctccgggca  
 gccacagggt ggatgcccct accccaggcc ctgcgcatac aggggcagggt  
 gctgcgctca gacctgcaa gagccatata cgggaggacc ctgcccctga  
 cctaagcca ccccaaaggc caaactctcc actccctcag ctacagacacc  
 ttctctcttc ccagatctga gtaactccca atcttctctc tgcagagtcc  
 aaatatgggt ccccatgccc atcatgcca ggtaagccaa cccaggcctc  
 gccctccagc tcaaggcggg acagggtgcc tagagtagcc tgcattccagg  
 gacaggcccc agccgggtgc tgacgcatcc acctccatct cttcctcagc  
 acctgagttc ctgggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca  
 aggacactct catgatctcc cggacccttg aggtcacgtg cgtggtgggtg  
 gacgtgagcc aggaagaccc cgagggtccag ttcaactggg acgtggatgg  
 cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca  
 gcacgtaccg tgtgggtcagc gtccctcaccg tcctgcacca ggactggctg  
 aacggcaagg agtacaagtg caagggtctcc aacaaaggcc tcccgtcctc  
 catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggaccac ggggtgagag  
 ggccacatgg acagaggtca gctcggccca cctctgccc tgggagtgac  
 cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca gccccgagag ccacagggtg  
 acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg  
 acctgcctgg tcaaaggctt ctaccaccag gacatcgccg tggagtggga  
 gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg  
 actccgacgg ctcttctctc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc  
 aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct  
 gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa

## ФИГ. 1DD

V-область gL20 1519 (экспрессия, альтернативная SEQ ID NO: 17, в клетках млекопитающего) SEQ ID NO: 90

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcca
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctgggtc ggagcctccg
gcaagacctt cctgtactgg ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag
cggctgatct acctgggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccgggtt
ctccgggtct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccagagg cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaag
```

легкая цепь gL20 1519

(V-константные области, экспрессия, альтернативная SEQ ID NO: 24, в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 91

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcca
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctgggtc ggagcctccg
gcaagacctt cctgtactgg ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag
cggctgatct acctgggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccgggtt
ctccgggtct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccagagg cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtggccgc
tccctccgtg ttcattcttc caccctccga cgagcagctg aagtccggca
ccgctccgtg cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag
gtgcagtgga aggtggacaa cgccttgcag tccggcaact cccaggaatc
cgtcaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg tcctccaccc
tgaccctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa
gtgaccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagtcct tcaaccgggg
cgagtgc
```



## ФИГ. 1ЕЕ

V-область gH20 1519

(экспрессия, альтернативная SEQ ID NO: 31, в клетках млекопитающего)

SEQ ID NO: 92

```
gaggtgcccc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc
cctgagactg tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca
tgggtctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtca ccgtgtcc
```

## ФИГ. 1FF

тяжелая цепь IgG4 1519gH20 (V+константные области человеческого гамма-4Р, альтернативная  
SEQ ID NO: 44) SEQ ID NO: 93

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc
cctgagactg tcttgccgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca
tgggtctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtea cegtgtcctc
tgcctccacc aagggccctt ccgtgttccc tctggccctt tgctcccgggt
ccacctccga gtctaccgcc gctctgggct gcctggtaa ggactacttc
cccgagcccg tgacagtgtc ctggaactct ggcgccctga cctccggcgt
gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac tccctgtcct
ccgtcgtgac cgtgccctcc tccagcctgg gcaccaagac ctacacctgt
aacgtggacc acaagccctc caacaccaag gtggacaagc ggggtggaatc
taagtacggc cctccctgcc cccctgcc tgcccctgaa tttctgggcg
gaccttccgt gttcctgttc ccccaaagc ccaaggacac cctgatgac
tcccggaccc ccgaagtgac ctgctgtggt gtggacgtgt cccaggaaga
tcccgaggtc cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaatg
ccaagacca gcccagagag gaacagttca actccaccta ccgggtggtg
tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa
gtgcaagggtg tccaacaagg gcctgccctc cagcatcgaa aagaccatct
ccaaggccaa gggccagccc cgcgagcccc aggtgtacac cctgccccct
agccaggaag agatgaccaa gaaccagggtg tccctgacct gtctggtaa
gggcttctac ccctccgaca ttgccgtgga atgggagtcc aacggccagc
ccgagaacaa ctacaagacc accccccctg tgctggacag cgacggctcc
ttcttcctgt actctcggct gaccgtggac aagtcccggg ggcaggaagg
caacgtcttc tcctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca
cccagaagtc cctgtccctg agcctgggca ag

```

Человеческий  $\beta 2M$  (SEQ ID NO: 95)

IQKTPQIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSQFHPPQIEIELLKNGKKIPNIEMSDLSFSKDWSFYILAHTFTPTETDVYA  
CRVKHVTLEPKTVTWDRDM

## прививка 1519 легкой цепи

1 5 10 15 20 25 30 abcde 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105  
 Light 1519 DVVMTQTPLSLVALGQPASISCSKSSQSLVGASGKTYLYWLFQSRSGQSPKRLIYLVSTLDSGIPDRFSGSGAETDFTLKIRRV EADDLG VYYCLGQTHFPHTFGAGTKLELK  
 || | | ||| ||| | || ||||| || | || || | || | | ||| ||| |||| | |  
 VK1 2-1-(1) A30 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRN-----DLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPYTFGQGTKLEIK  
 | ||| || ||  
 1519 gL20 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLVGASGKTYLYWLFQKPGKAPKRLIYLVSTLDSGIPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLGQTHFPHTFGQGTKLEIK

### Условные обозначения

1519=крысиная последовательность вариабельной области легкой цепи

1519 gL20=Гуманизированная прививка вариабельной области легкой цепи 1519 с использованием последовательности 2-1-(1)A30 подгруппы VK1 человеческой зародышевой линии в качестве акцепторного каркасного участка

CDR подчеркнуты и выделены жирным шрифтом

Донорские остатки выделены курсивом и подчеркнуты, и остатки L36, F37 и I58 выделены цветом

ФИГ. 2В

прививка 1519 тяжелой цепи

[illegible]

### Условные обозначения

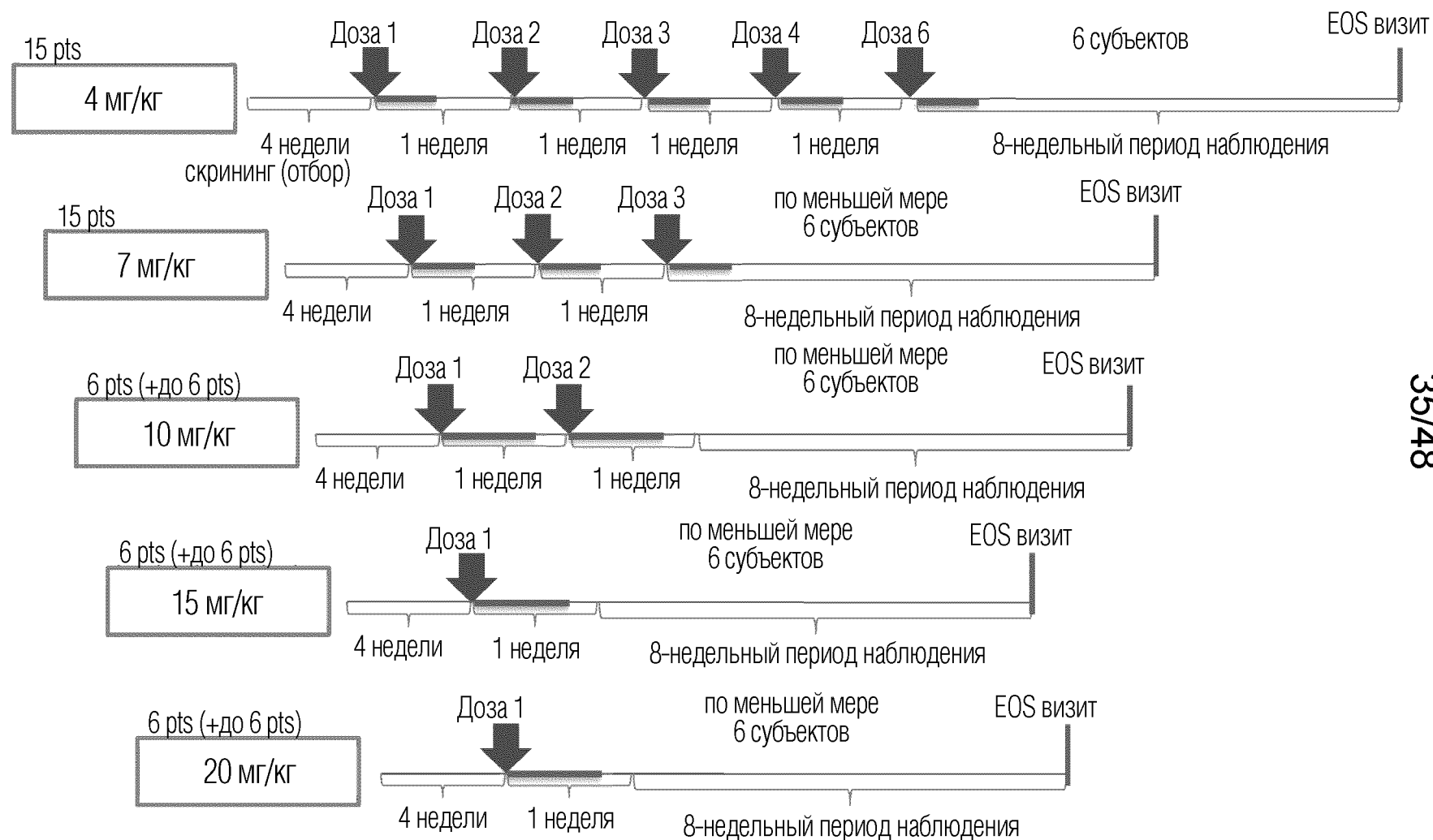
1519=ккрысиная последовательность вариабельной области тяжелой цепи

1519gH20=Гуманизированная прививка вариабельной области тяжелой цепи 1519 с использованием последовательности 1-3 3-07 подгруппы VN3 человеческой зародышевой линии в качестве акцепторного каркасного участка

CDR подчеркнуты и выделены жирным шрифтом

Донорские остатки выделены курсивом и подчеркнуты, и остатки P3, V24, S76, T93 и T94 выделены цветом

**ФИГ. 3** Схема исследования ИТП (SubQ; UCB7665) Открытое исследование по безопасности и переносимости



## ФИГ. 4: Инструмент для оценки кровотечений при ИТП (ITP-BAT)

Ранжирование симптомов кровотечения при появлении и при каждой последующей оценке<sup>1</sup>

| Тип кровотечения                                                         | БАЛЛЫ НА ОСНОВЕ ЭПИЗОДА НАИХУДШЕГО ПРОЯВЛЕНИЯ С ПОСЛЕДНЕГО ВИЗИТА <sup>2</sup>                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                    |   |
|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
|                                                                          | 0                                                                                                                                                                                                            | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 2                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 3                                                                                                                                                  | 4 |
| КОЖА                                                                     |                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                    |   |
| Петехия<br>(не включает индуцированную стероидами или сенильную пурпуру) | <input type="checkbox"/> Отсутствует                                                                                                                                                                         | <input type="checkbox"/> Меньше или равно 10 в области размером с ладонь пациента <sup>3</sup> в наиболее пораженной области тела <sup>4</sup><br><br><input type="checkbox"/> Любое количество, если сообщается пациентом                                                                                                                       | <input type="checkbox"/> Более 10 в области размером с ладонь пациента или более 5 по меньшей мере в 2 областях размером с ладонь пациента, расположенных по меньшей мере в 2 разных областях тела <sup>4</sup> , одна над и одна под поясом (в наиболее пораженных областях тела) <sup>4</sup> | <input type="checkbox"/> Более 50, если разбросаны как выше, так и ниже пояса                                                                      |   |
| Экхимозы                                                                 | <input type="checkbox"/> Ни одного или до 2 в одной и той же области тела <sup>4</sup> размером меньше ладони пациента, если<br>а) являются спонтанными или<br>б) не соответствуют травматенозу <sup>5</sup> | <input type="checkbox"/> 03 или более в одной и той же области тела <sup>4</sup> , но все по размеру меньше ладони пациента, если<br>а) являются спонтанными или<br>б) не соответствуют травме/стенозу <sup>5</sup><br><input type="checkbox"/> По меньшей мере 2 в двух разных областях тела <sup>4</sup> размером меньше ладони пациента, если | <input type="checkbox"/> От 1 до 5, размер которых больше ладони пациента, если<br>а) являются спонтанными или<br>б) не соответствуют травме/стенозу с или без экхимозов меньшей площади                                                                                                        | <input type="checkbox"/> Более 5, размер которых больше ладони пациента, если<br>а) являются спонтанными или<br>б) не соответствуют травме/стенозу |   |

|                                            |                                      |                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                            |                                      | а) являются спонтанными<br>или<br>б) не соответствуют<br>травме/стенозу <sup>5</sup><br><br><input type="checkbox"/> Любое количество и<br>размер, если сообщается<br>пациентом |                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Подкожные<br>гематомы                      | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> 1 размером меньше<br>ладони пациента<br><br><input type="checkbox"/> Любое количество и<br>размер, если сообщается<br>пациентом                        | <input type="checkbox"/> 2 размером<br>меньше ладони<br>пациента, спонтанные<br><br><input type="checkbox"/> 2 размером меньше<br>ладони пациента, не<br>соответствуют травме <sup>5</sup> | <input type="checkbox"/> Более 2, размер<br>которых меньше<br>ладони пациента, или<br>по меньшей мере 1,<br>размер которой боль-<br>ше ладони пациента,<br>спонтанная<br><input type="checkbox"/> Более 2 размер<br>которых меньше<br>ладони пациента, или<br>по меньшей мере 1,<br>размер которой боль-<br>ше ладони пациента, не<br>соответствуют травме <sup>5</sup> |
| Кровотечение из<br>мелких ран <sup>6</sup> | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Длится <5 мин<br><br><input type="checkbox"/> Любой эпизод,<br>если сообщается<br>пациентом                                                            | <input type="checkbox"/> Длится >5 мин или<br>мешает повседневной<br>активности                                                                                                            | <input type="checkbox"/> Требующее<br>длительного медицин-<br>ского наблюдения во<br>время этого визита<br><input type="checkbox"/> Медицинское<br>заключение,<br>описывающее оценку                                                                                                                                                                                    |

|                                                           | пациента врачом                      |                                                                                                                  |                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                              |
|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Слизистая<br>Эпистаксис <sup>7</sup>                      | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Длится <5 мин<br><input type="checkbox"/> Любой эпизод,<br>если сообщается<br>пациентом | <input type="checkbox"/> Длится >5 мин или<br>мешает повседневной<br>активности         | <input type="checkbox"/> Тампонада или<br>прижигание или<br>оценка в стационаре<br>во время этого<br>визита<br><input type="checkbox"/> Медицинское<br>заключение с опи-<br>санием тампонады<br>или прижигания или<br>оценки в стационаре | <input type="checkbox"/> Переливание<br>эритроцитов или<br>падение Hb >2г/дл |
| Ротовая полость<br>- кровоточивость<br>десен <sup>7</sup> | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Длится <5 мин<br><input type="checkbox"/> Любой эпизод,<br>если сообщается<br>пациентом | <input type="checkbox"/> Длится >5 мин или<br>мешает повседневной<br>активности         | <input type="checkbox"/> Требующее дли-<br>тельного медицин-<br>ского наблюдения во<br>время этого визита<br><input type="checkbox"/> Медицинское<br>заклучение, опи-<br>сывающее оценку<br>пациента врачом                               |                                                                              |
| Полость рта -<br>геморрагические<br>буллы или<br>пузырьки | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Менее 3<br><input type="checkbox"/> Любое количество,<br>если сообщается<br>пациентом   | <input type="checkbox"/> От 3 до 10, но не<br>создают проблем при<br>пережевывании пищи | <input type="checkbox"/> Более 10 или<br>более 5, если<br>создают проблемы<br>при пережевывании<br>пищи                                                                                                                                   |                                                                              |



|                                                                                                                    |                                      |                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ротовая полость<br>- кровотечение от<br>прикусывания губ<br>и языка или после<br>потери молочных<br>зубов          | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Длится <5 мин<br><input type="checkbox"/> Любой эпизод,<br>если сообщается<br>пациентом                                                  | <input type="checkbox"/> Длится >5 мин или<br>мешает повседневной<br>активности                                                             | <input type="checkbox"/> Вмешательство для<br>обеспечения гемостаза<br>или оценка в стацио-<br>наре во время этого<br>визита<br><input type="checkbox"/> Медицинское за-<br>ключение с описанием<br>вмешательства для<br>обеспечения гемостаза<br>или оценки<br>в стационаре |
| Субконъюнкти-<br>вальное<br>кровоизлияние<br>(не из-за заболева-<br>ния конъюнктивы)                               | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Петехия/кровоизлия-<br>ние, частично поражаю-<br>щее один глаз<br><input type="checkbox"/> Любой эпизод,<br>если сообщается<br>пациентом | <input type="checkbox"/> Петехия/<br>кровоизлияние,<br>частично поражающее<br>оба глаза, или<br>диффузное<br>кровоизлияние в<br>одном глазу | <input type="checkbox"/> Диффузное<br>кровоизлияние в<br>обоих глазах                                                                                                                                                                                                        |
| Орган<br>(и внутренняя<br>слизистая оболочка)<br>Кровотечение в<br>ЖКТ не объясняется<br>видимым<br>кровоотечением | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Любой эпизод,<br>если сообщается<br>пациентом                                                                                            | <input type="checkbox"/> Присутствует<br>во время визита<br><input type="checkbox"/> Описано в медицин-<br>ском заключении                  | <input type="checkbox"/> Требующее прове-<br>дения эндоскопии <sup>8</sup> или<br>других терапевтических<br>процедур или оценки<br><input type="checkbox"/> Переливание<br>эритроцитов или<br>падение Hb >2г/дл                                                              |

|                                                                                                                     |                                      |                                                                                                                                              |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| или поражением<br>слизистой оболочки:<br>Гематемезис,<br>Мелена,<br>Кровянистый стул,<br>Ректальное<br>кровотечение |                                      |                                                                                                                                              |                                                                                                                            | в стационаре во время<br>этого визита<br><input type="checkbox"/> Медицинское<br>заключение, предпи-<br>сывающий проведе-<br>ние эндоскопии <sup>8</sup> или<br>других терапевтических<br>процедур или обследо-<br>вания в стационаре                                           |                                                                              |
| Легочное<br>кровотечение<br>Кровохарканье<br>Трахеобронхиальное<br>кровотечение                                     | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Любой эпизод,<br>если сообщается<br>пациентом                                                                       | <input type="checkbox"/> Присутствует<br>во время визита<br><input type="checkbox"/> Описано в медицин-<br>ском заключении | <input type="checkbox"/> Требующее прове-<br>дения бронхоскопии <sup>8</sup><br>или других терапевти-<br>ческих процедур или<br>оценки в стационаре во<br>время этого визита<br><input type="checkbox"/> Эквивалентный<br>эпизод, если он описан<br>в медицинском<br>заключении | <input type="checkbox"/> Переливание<br>эритроцитов или<br>падение Hb >2г/дл |
| Гематурия                                                                                                           | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Любой эпизод,<br>если сообщается<br>пациентом<br><input type="checkbox"/> Макроскопическая<br>(лабораторный анализ) | <input type="checkbox"/> Макроскопическая<br><input type="checkbox"/> Описана<br>в медицинском<br>заключении               | <input type="checkbox"/> Макроскопиче-<br>ская и требующая<br>цитоскопии <sup>8</sup> или<br>других терапевтических<br>процедур или оценки<br>в стационаре во время<br>этого визита                                                                                             | <input type="checkbox"/> Переливание<br>эритроцитов или<br>падение Hb >2г/дл |

|                                                                                                                                  |                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                  |                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                                                                                                                                    |                                                                        |
| Меноррагия (по сравнению с состоянием до проявления ИТП или фазой заболевания с нормальным количеством тромбоцитов) <sup>9</sup> | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Удвоение количества прокладок или тампонов в последнем цикле по сравнению с состоянием до проявления ИТП или фазой заболевания с нормальным количеством тромбоцитов<br><input type="checkbox"/> Балл >100 согласно оценке РВАС в последнем цикле, если нормальная оценка в циклах до проявления ИТП или в фазе заболевания с нормальным количеством тромбоцитов | <input type="checkbox"/> Смена прокладок чаще, чем каждые 2 часа, или наличие сгустков крови и кровотечения<br><input type="checkbox"/> Требующее комбинированного лечения антифибринолитическими средствами и гормональной терапией или гинекологического исследования (либо во время этого визита, либо описано в медицинском заключении) | <input type="checkbox"/> Острые меноррагии, требующие госпитализации или абляции эндометрия (либо во время этого визита или описанные в медицинском заключении)<br><input type="checkbox"/> Переливание эритроцитов или падение Hb >2г/дл |                                                                        |
| Внутримышечные гематомы (только если диагностированы врачом с помощью объективных методов)                                       | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Посттравматическая травма, диагностированная во время этого визита, если она оценена как не соответствующая травме<br><input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                                                                                                                                    | <input type="checkbox"/> Спонтанные, диагностированные во время этого визита<br><input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                                                                                                                                                      | <input type="checkbox"/> Спонтанные или посттравматические (если определены как не соответствующие травме), диагностированные во время этого визита и требующие госпитализации или хирургического вмешательства                           | <input type="checkbox"/> Переливание эритроцитов или падение Hb >2г/дл |

|                                                                                             |                                      |                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                               |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                             |                                      |                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                      | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                               |
| Гемартроз<br>(только если диагностирован врачом с помощью объективных методов)              | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Посттравматический, диагностированный во время этого визита, с сохранением функции или минимальным нарушением, если оценивается как не соответствующий травме | <input type="checkbox"/> Спонтанные, диагностированный во время этого визита, с сохранением функции или минимальным нарушением                                                                                                                                       | <input type="checkbox"/> Спонтанный или посттравматический (если оценивается как не соответствующий травме), диагностированный во время этого визита и требующий фиксации или аспирации сустава          | <input type="checkbox"/> Спонтанный или посттравматический (если оценивается как не соответствующий травме), диагностированный во время этого визита и требующий хирургического вмешательства |
|                                                                                             |                                      | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                                                                                 | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                                                                                                                                                               | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                                                                                                   | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                                                                                        |
| Глазное кровоизлияние<br>(только если диагностировано врачом с помощью объективных методов) | <input type="checkbox"/> Отсутствуют |                                                                                                                                                                                        | <input type="checkbox"/> Любое посттравматическое кровоизлияние в стекловидное тело или сетчатку, затронувшее один или оба глаза с нарушенным/нечетким зрением или без нарушения, присутствующее во время этого визита, если оно считается не соответствующим травме | <input type="checkbox"/> Спонтанное кровоизлияние в стекловидное тело или сетчатку, затронувшее один или оба глаза с нарушенным/нечетким зрением или без нарушения, присутствующее во время этого визита | <input type="checkbox"/> Спонтанное кровоизлияние в стекловидное тело или сетчатку с потерей зрения в одном или обоих глазах, присутствующее во время этого визита                            |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                      |                                                                                        |                                                                                                                             |                                                                                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                      | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                      | <input type="checkbox"/> Эквивалентный эпизод, если он описан в медицинском заключении                                        |
| Внутричерепное кровоотечение <sup>10</sup> :<br>интрацеребральное, интравентрикулярное, субарахноидальное, субдуральное, экстрадуральное (только если диагностировано с помощью объективных методов во время визита или описано в медицинском заключении, предоставленном пациентом) | <input type="checkbox"/> Отсутствуют | <input type="checkbox"/> Любое событие после травмы, требующее госпитализации          | <input type="checkbox"/> Любое спонтанное событие, требующее госпитализации при наличии основного внутричерепного поражения | <input type="checkbox"/> Любое спонтанное событие, требующее госпитализации без основного внутричерепного поражения           |
| Другое внутреннее кровоотечение:<br>гемоперитонеум<br>немоперикард<br>гемоторакс<br>забрюшинное кровоотечение<br>печеночный и селезеночный пелиоз с разрывом органа<br>ретроорбитальное кровоотечение                                                                                | <input type="checkbox"/> Отсутствуют |                                                                                        | <input type="checkbox"/> Любое событие, требующее госпитализации <48 часов                                                  | <input type="checkbox"/> Любое событие, требующее госпитализации >48 часов или переливание эритроцитов, или падение Hb >2г/дл |

|                                                                                                                                                                                                   |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| метроррагия<br>и т.п.<br>(только если диагно-<br>стировано с помо-<br>щью объективных<br>методов во время<br>визита или описано в<br>медицинском заклю-<br>чении, предоставлен-<br>ном пациентом) |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

Оценка основана на физическом осмотре, проведенном во время визита врачом или опытной медсестрой, или на истории болезни пациента, дополненной имеющимися медицинскими заключениями. Проявления кровотечений, о которых сообщал пациент, но которые не наблюдались во время сбора данных, оценивают, равными 1. Балл 5 относится к смертельным кровотечениям.

В дополнение к руководству, предлагаемому в таблице, рекомендуется обратиться к Дополнительному Приложению 3 для получения более подробных определений и к форме сбора данных в Дополнительном Приложении 4. Иллюстративные примеры доступны на веб-сайте Фонда Гематологических Проектов (<http://itpbat.fondazioneematologia.it/>)

Для установления балла >1 все не явно выраженные кожные кровотечения и не явно выраженные кровотечения слизистой оболочки (петехии, экхимозы, подкожные гематомы, субконъюнктивальные кровотечения пузырьков/булл) должны быть выявлены во время визита врачом или опытной медсестрой, собирающей анамнез.

Для кровотечений из незначительных ран и явных кровотечений слизистой (носовое кровотечение, кровотечение десен, кровотечения в результате прикуса губы и языка или после потери/удаления молочных зубов) и всех кровотечений в органах при присвоении балла необходимо учитывать медицинское заключение с описанием симптомов или указанием конкретного вмешательства/предписания.

Потребность в специфическом лечении ИТП и антифибринолитиках (кроме меноррагии) не рассматривалась при оценке из-за их субъективного характера и их применения не только для контроля фактического кровотечения, но и для уменьшения «риска» возникновения предстоящего или будущего кровотечения (см. Дополнительное приложение 1).

<sup>1</sup> В случае пациентов, обследуемых впервые, следует рассмотреть все виды кровотечений, возникающих во время визита и в течение 15 дней, предшествующих визиту.

<sup>2</sup> Каждый тип кровотечения необходимо оценивать на основе наихудшего проявления кровотечения, которое происходило во время каждого периода наблюдения или в течение 15 дней, предшествующих первому визиту.

<sup>3</sup> Размер ладони пациента, как правило, считается пропорциональным площади поверхности тела. Ладонь=внутренняя поверхность кисти, растянутая между дистальной складкой запястья и основанием пальцев (поверхность пальцев исключается).

<sup>4</sup> Области тела включают: лицо, шею, правую и левую верхние конечности (рассматриваются отдельно), правую и левую нижние конечности (рассматриваются отдельно), туловище, живот и область тела ниже колен (для амбулаторных пациентов означает область ниже колен).

<sup>5</sup> Кровотечения, считающиеся соответствующими травме/стенозу по данным клинического осмотра, не должны регистрироваться для кожных проявлений

<sup>6</sup> Незначительная рана означает поверхностные порезы кожи (например, бритвой, ножом или ножницами).

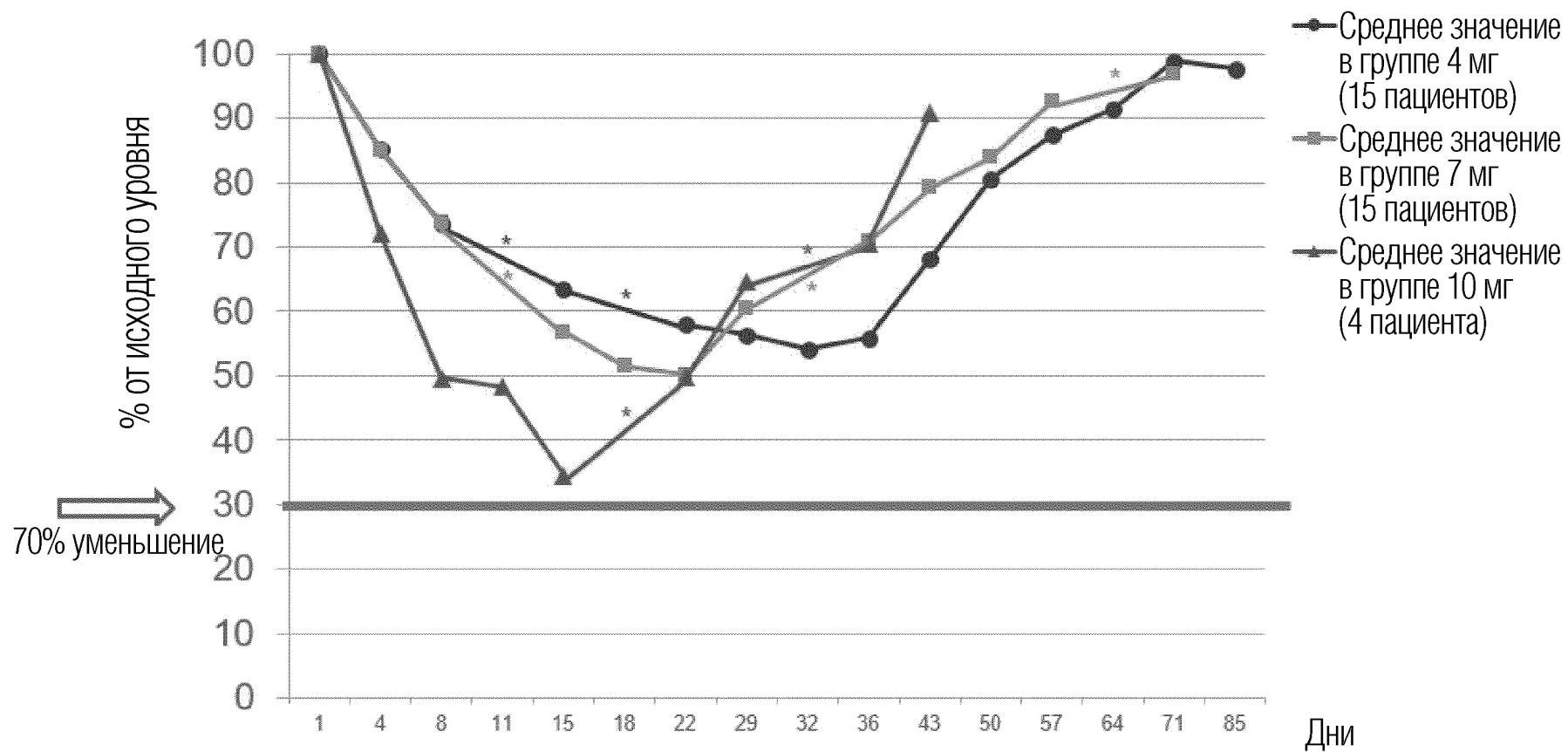
<sup>7</sup> Носовое кровотечение и кровотечение десен также сообщается некоторыми субъектами в нормальном состоянии. Таким образом, при оценке этих проявлений требуется критическая оценка: о них следует сообщать только в том случае, если такие кровотечения оцениваются как более серьезные по сравнению с кровотечением до проявления ИТП (pre-ИТП), если таковое имеется

<sup>8</sup> Любые эндоскопические исследования следует учитывать при определении балла только в том случае, если они выполняются в терапевтических целях, а не только в диагностических.

<sup>9</sup> Не касается девочек при менархе класса 1, так как отсутствует сравнение с предыдущими циклами.

<sup>10</sup> Всегда следует сообщать о внутричерепном кровотечении, независимо от его степени. Например, если у женщины была S2 (подкожная гематома), M2 (эпистаксис), O3 (меноррагия) и степень внутричерепного кровотечения 2 (посттравматическое состояние, требующее госпитализации), индекс SMOG является S2M2O3 с внутричерепным 2). Если у того же пациента также было внутричерепное кровотечение 3 степени, индекс SMOG является S2M2O3 (внутричерепное 3) (см. Текст)

ФИГ. 5



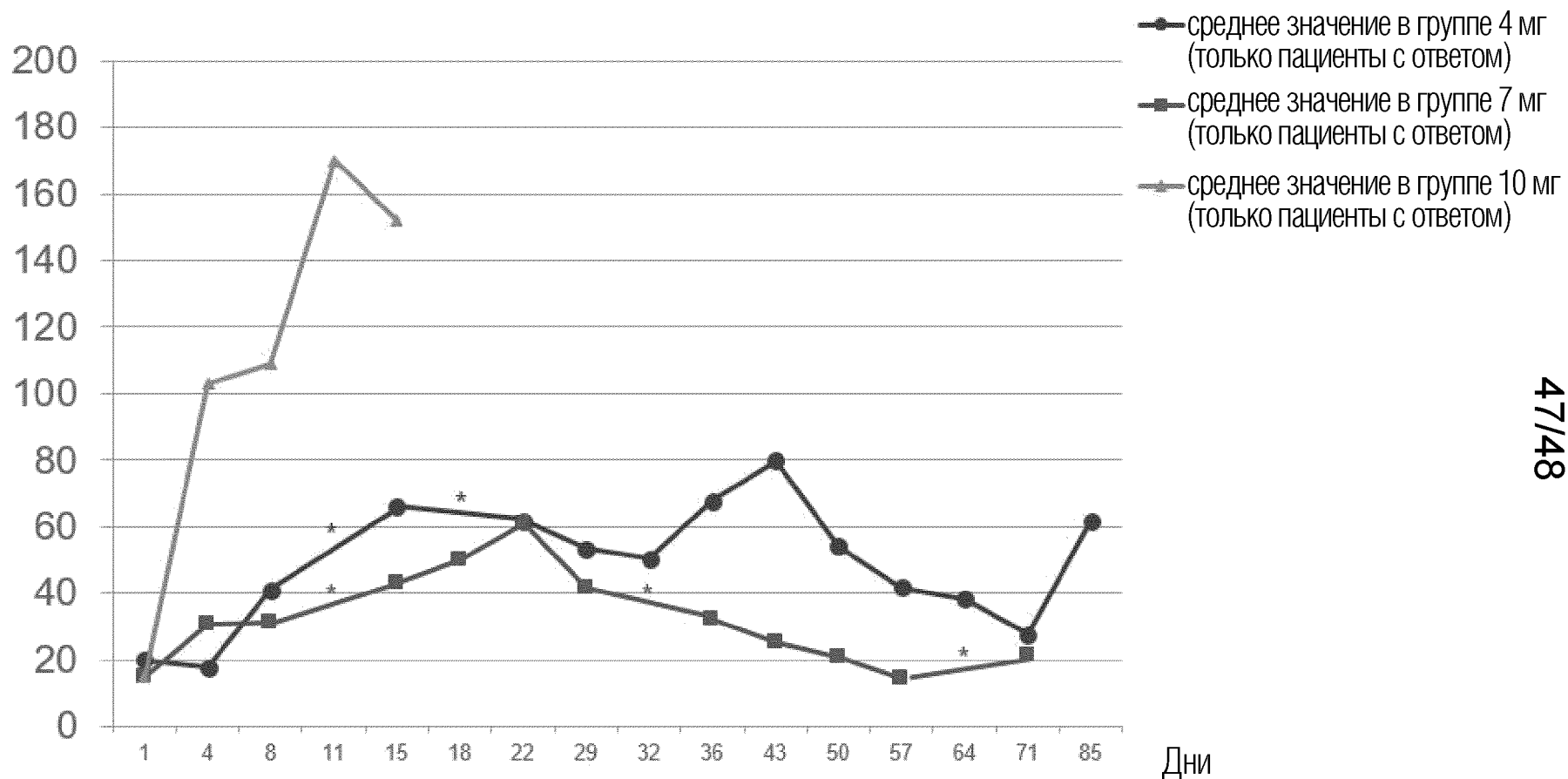
\*Среднее значение в группе 4 мг: отсутствуют данные для дня 11 и дня 18

\*Среднее значение в группе 7 мг: отсутствуют данные для дня 11, дня 32 и дня 64

\*Среднее значение в группе 10 мг: отсутствуют данные для дня 18 и дня 32



ФИГ. 6

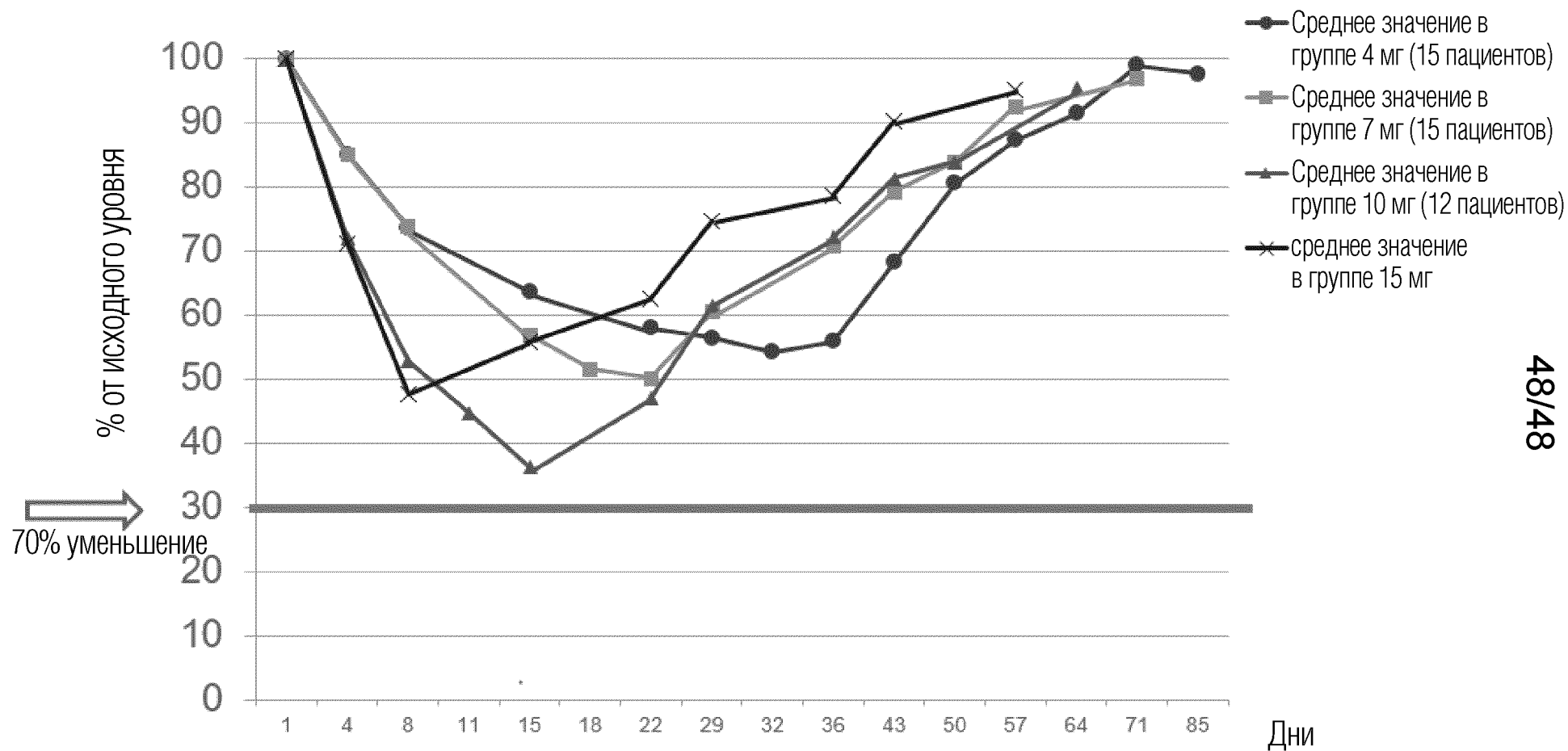


\*Среднее значение в группе 4 мг: отсутствуют данные для дня 11

\*Среднее значение в группе 7 мг: отсутствуют данные для дня 11, дня 32 и дня 64

\*Среднее значение в группе 10 мг: отсутствуют данные для дня 18 и дня 32

ФИГ. 7



\*Среднее значение в группе 4 мг: отсутствуют данные для дня 11 и дня 18

\*Среднее значение в группе 7 мг: отсутствуют данные для дня 11, дня 32 и дня 64

\*Среднее значение в группе 10 мг: отсутствуют данные для дня 11, дня 32 и дня 57

\*Среднее значение в группе 15 мг: отсутствуют данные для дня 11, дня 18, дня 32 и дня 50