(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202090957 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.07.28

(22) Дата подачи заявки
2018.10.17

(51) Int. Cl. *C07K 16/18* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)

(54) ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ПОЛНОСТЬЮ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННО МОДИФИЦИРОВАННЫХ АНТИТЕЛ

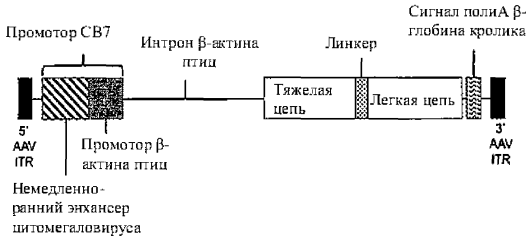
(31) **62/574,106; 62/609,750; 62/700,124**
(32) **2017.10.18; 2017.12.22; 2018.07.18**
(33) **US**
(86) **PCT/US2018/056346**
(87) **WO 2019/079496 2019.04.25**
(88) **2019.06.13**

(71) Заявитель:
РИДЖЕНКСБИО ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Данос Оливье, У Чжучунь, Гернер Франц, Ван Еверен Шерри (US)

(74) Представитель:
Парамонова К.В., Глухарёва А.О., Лыу Т.Н., Угрюмов В.М., Строкова О.В., Христофоров А.А., Гизатуллина Е.М., Гизатуллин Ш.Ф., Костюшенкова М.Ю., Лебедев В.В. (RU)

(57) Представлены способы и композиции для доставки полностью человеческих посттрансляционно модифицированных терапевтических моноклональных антител и их антигенсвязывающих фрагментов. Полностью человеческие посттрансляционно модифицированные терапевтические моноклональные антитела могут предпочтительно доставляться способами генной терапии, в частности в виде вектора рекомбинантного аденоассоциированного вируса (rAAV), в соответствующую ткань. Также представлены способы изготовления векторов AAV, фармацевтические композиции и способы лечения. Кроме того, представлены способы получения терапевтических антител, которые являются "биологически улучшенными", как полностью человеческие посттрансляционно модифицированные. Эти полностью человеческие посттрансляционно модифицированные терапевтические антитела можно вводить субъекту, нуждающемуся в лечении терапевтическими антителами.



202090957 A1

202090957 A1

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ПОЛНОСТЬЮ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННО МОДИФИЦИРОВАННЫХ АНТИТЕЛ

ОПИСАНИЕ

0. Перечень последовательностей

[0000] Настоящая заявка содержит Перечень последовательностей, который был представлен в электронном виде в формате ASCII и полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 17 октября 2018 г., называется 26115_105004_SL.txt и характеризуется размером 400185 байт.

1. Введение

[1] Описаны композиции и способы для доставки полностью человеческого посттрансляционно модифицированного (HuPTM) терапевтического моноклонального антитела («mAb») или антигенсвязывающего фрагмента HuPTM терапевтического mAb — например полностью гликозилированного (HuGly) Fab человека терапевтического mAb — субъекту-человеку, у которого диагностировано заболевание или состояние, для которого показано лечение терапевтическим mAb.

2. Область техники

[2] Было показано, что терапевтические mAb эффективны при лечении ряда заболеваний и состояний. Однако, поскольку эти средства эффективны только в течение короткого периода времени, часто требуются повторные инъекции в течение длительного периода времени, что создает значительную нагрузку для пациентов.

3. Сущность изобретения

[3] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента HuPTM терапевтического mAb (например, полностью человеческого гликозилированного Fab (HuGlyFab) терапевтического mAb) пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано заболевание или состояние, для которого показано лечение терапевтическим mAb. Такие антигенсвязывающие фрагменты терапевтических mAb включают в себя Fab, $F(ab')_2$ или scFv (одноцепочечный вариабельный фрагмент) (совместно именуемые в настоящем документе «антигенсвязывающий фрагмент»). Используемый в настоящем документе «HuPTM Fab» может включать в себя другие антигенсвязывающие фрагменты mAb. Согласно

альтернативному варианту осуществления могут использоваться полноразмерные mAb. Доставка может быть преимущественно осуществлена посредством генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей терапевтическое mAb или его антигенсвязывающий фрагмент (или гипергликозилированное производное того и другого), пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано состояние, для которого показано лечение терапевтическим mAb - для создания постоянного депо в ткани или органе пациента, которое непрерывно поставляет HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического mAb, т.е. гликозилированного трансгенного продукта человека, в целевую ткань, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент оказывает свое терапевтическое действие.

[4] HuPTM mAb или HuPTM антигенсвязывающий фрагмент, кодируемый трансгеном, может включать в себя, без ограничения, полноразмерный или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического антитела, которое связывается с:

- *Мишенями нервной системы, включая в себя пептиды амилоид бета (Aβ или Abeta)*, полученные из белка-предшественника амилоида (APP), вовлеченный в болезнь Альцгеймера, включая в себя, без ограничения, адуканумаб, кренезумаб, гантенерумаб и BAN2401, показанные для лечения болезни Альцгеймера (смотрите фиг. 2A-2C и 2F); *тау-белок*, вовлеченный в таупатии, включая в себя болезнь Альцгеймера, прогрессирующий надъядерный паралич, лобно-височную деменцию, хроническую травматическую энцефалопатию, комплекс Пика, первичную возрастную таупатию, включая в себя, без ограничения, «aTAU» (смотрите фиг. 2D) для лечения таупатий; и *рецептор CGRP*, вовлеченный в мигрени и кластерные головные боли, включая в себя, без ограничения, эренумаб (AIMOVIG™) (смотрите фиг. 2E), эптинезумаб, фреманезумаб и галканезумаб для лечения мигреней и кластерных головных болей;
- *Интерлейкинами или рецепторами интерлейкина*, включая в себя, без ограничения, *IL4R*, такой как дупилумаб (смотрите фиг. 3A), показанный для лечения атопического дерматита; *IL17A*, такой как иксекизумаб (TALTZ®) или секукинумаб (COSENTYX®) (смотрите фиг. 3B и 3C), показанный для лечения бляшечного псориаза, псориатического артрита и анкилозирующего спондилита; *IL-5*, такой как меполизумаб (NUCALA®) (смотрите фиг. 3D), показанный для лечения астмы; и *IL12/IL23*, такой как устекинумаб (STELARA®) (смотрите фиг. 3E), показанный для лечения псориаза и болезни Крона;
- *Интегрином*, включая в себя, без ограничения, ведолизумаб (ENTYVIO®), показанный для лечения язвенного колита и болезни Крона (смотрите фиг. 4A), и

натализумаб (антиинтегрин альфа 4) для лечения рассеянного склероза и болезни Крона (смотрите фиг. 4B);

• *Мишенями гиперхолестеринемии и сердечно-сосудистых заболеваний, такими как PCSK9*, включая в себя, без ограничения, алирокумаб (PRALUENT®) и эволокумаб (REPATHA®), показанные для лечения HeFH и HoFH (смотрите фиг. 5A и 5B); или *ANGPTL3*, включая в себя, без ограничения, эвинакумаб (смотрите фиг. 5C), показанный для лечения HoFH и тяжелых форм дислипидемии, и *провоспалительные/проатерогенные фосфолипиды*, включая в себя, без ограничения, E06-scFv для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, включая в себя атеросклероз (смотрите фиг. 5D);

• *RANKL*, включая в себя, без ограничения, деносумаб (XGEVA® и PROLIA®), показанный для лечения остеопороза, увеличения костной массы у пациентов с раком молочной железы и простаты, а также для предотвращения связанных со скелетом событий из-за метастазов в кости (смотрите фиг. 6);

• *PD-1* или *PD-L1* или *PD-L2* (эти антитела иногда называют в настоящем документе блокаторами PD-1), включая в себя, без ограничения, ниволумаб (OPDIVO®) и пембролизумаб (KEYTRUDA®), показанные для лечения метастатической меланомы, лимфомы и немелкоклеточных карцином легких (смотрите фиг. 7A и 7B);

• *BLyS (стимулятором B-лимфоцитов, также известным как фактор активации B-клеток (BAFF))*, включая в себя, без ограничения, белимумаб (BENLYSTA®), показанный для лечения системной красной волчанки (SLE) (смотрите фиг. 8E);

• *Глазными мишенями*, включая в себя, без ограничения, VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), включая в себя, без ограничения, ранибизумаб (LUCENTIS®), бевацизумаб (AVASTIN®) и бролуцизумаб, показанные для лечения неоваскулярной возрастной макулярной дегенерации (например, «влажной формы AMD») (смотрите фиг. 8A, 8B и 8D); фактор D, включая в себя, без ограничения, лампализумаб, для лечения сухой формы AMD (сморите фиг. 8C); и матриксную металлопротеиназу 9 (MMP9), включая в себя, без ограничения, андекаликсимаб, для лечения сухой формы AMD (фиг. 8G);

• *TNF-альфа*, включая в себя, без ограничения, адалимумаб (HUMIRA®) и инфликсимаб (REMICADE®), показанные для лечения ревматоидного артрита, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита, болезни Крона,

бляшечного псориаза и язвенного колита (фиг. 9A для адалимумаба и фиг. 9B для инфликсимаба); и

• *Мишенями-плазменными белками*, такими как белки комплемента человека, включая в себя, без ограничения, белки комплемента анти-C5 и C5a, такие как экулизумаб (SOLIRIS®), для лечения пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией (PNH) для снижения гемолиза или лечения атипичного гемолитического уремического синдрома (aHUS) для ингибирования опосредованной комплементом тромботической микроангиопатии (фиг. 8F); и калликреин плазмы, включая в себя, без ограничения, ланаделумаб для лечения наследственного ангионевротического отека (смотрите фиг. 8H);

[5] или такие mAb или антигенсвязывающие фрагменты, сконструированные так, чтобы они содержали дополнительные сайты гликозилирования в Fab-домене (например, смотрите публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки, для описания производных антител, которые гипергликозилированы в Fab-домене полноразмерного антитела).

[6] Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, включает в себя нереплицирующиеся векторы рекомбинантных аденоассоциированных вирусов («rAAV»). Однако можно использовать другие вирусные векторы, включая в себя, без ограничения, лентивирусные векторы; вирусные векторы осповакцины или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК». Экспрессия трансгена может контролироваться конститутивными или тканеспецифическими элементами контроля экспрессии.

[7] Конструкции генной терапии разработаны таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Согласно некоторым вариантам осуществления кодирующие последовательности кодируют Fab или $F(ab')_2$ или scFv. Согласно другим вариантам осуществления конструкции экспрессируют scFv, в котором вариабельные домены тяжелой и легкой цепей соединены через гибкий нерасщепляемый линкер. Согласно некоторым вариантам осуществления конструкция экспрессируется с N-конца NH_2-V_L-линкер-V_H-COOH или NH_2-V_H-линкер-V_L-COOH.

[8] Терапевтические антитела, доставляемые генной терапией, имеют несколько преимуществ по сравнению с инъецированными или инфузированными терапевтическими антителами, которые рассеиваются с течением времени, что приводит к пиковым и

минимальным уровням. Непрерывная экспрессия антитела трансгенного продукта, в отличие от многократного введения антитела, обеспечивает более постоянный уровень антител, присутствующих в месте действия, и является менее рискованной и более удобной для пациентов, так как требуется меньше инъекций. Кроме того, антитела, экспрессируемые из трансгенов, посттрансляционно модифицированы иным способом, чем те, которые вводятся напрямую, из-за разного микроокружения, присутствующего во время и после трансляции. Без связи с какой-либо конкретной теорией, это приводит к антителам, которые имеют различные характеристики диффузии, биоактивности, распределения, аффинности, фармакокинетики и иммуногенности, так что антитела, доставленные в место действия, являются «биологически улучшенными» по сравнению с антителами, вводимыми напрямую.

[9] Кроме того, антитела, экспрессируемые из трансгенов in vivo, вряд ли будут содержать продукты распада, связанные с антителами, производимыми рекомбинантными технологиями, такими как агрегация белка и окисление белка. Агрегация - это проблема, связанная с производством и хранением белка из-за высокой концентрации белка, поверхностного взаимодействия с производственным оборудованием и контейнерами, а также очистки с помощью определенных буферных систем. Эти условия, которые способствуют агрегации, не существуют при экспрессии трансгенов в генной терапии. Окисление, такое как окисление метионина, триптофана и гистидина, также связано с производством и хранением белка и вызвано стрессовыми условиями культивирования клеток, контактом металла и воздуха и примесями в буферах и вспомогательных веществах. Белки, экспрессируемые трансгенами in vivo, могут также окисляться в неблагоприятных условиях. Однако люди и многие другие организмы оснащены системой антиоксидантной защиты, которая не только снижает окислительный стресс, но иногда также восстанавливает и/или обращает вспять процесс окисления. Таким образом, белки, производимые in vivo, вряд ли находятся в окисленной форме. Как агрегация, так и окисление могут влиять на активность, фармакокинетику (клиренс) и иммуногенность.

[10] Фармацевтические композиции, подходящие для введения субъектам-людям, содержат суспензию рекомбинантного вектора в буфере для состава, содержащем физиологически совместимый водный буфер, поверхностно-активное вещество и необязательные вспомогательные вещества.

[11] Настоящее изобретение основано, частично, на следующих принципах:

(i) Терапевтические средства на основе mAb, имеющиеся в настоящее время на рынке, характеризуются изотипами иммуноглобулина G (IgG), такими как IgG1, IgG2 и IgG4, которые, как правило, характеризуются фармакокинетическими (PK)

характеристиками, такими как медленный клиренс, длительный период полужизни и ограниченное распределение в тканях. После внутривенного введения типичные профили PK mAb в сыворотке являются двухфазными с быстрой фазой распределения и более медленной фазой элиминации; таким образом, требуется повторное введение для поддержания доз, необходимых для лечения хронических состояний. Кроме того, распределение mAb, как правило, ограничено сосудистыми и интерстициальными пространствами из-за их большого размера и гидрофильности. Степень распределения mAb из кровотока в большинстве тканей, как правило, колеблется от 5 до 15%, за исключением головного мозга, где она намного ниже. (Смотрите, например, публикацию Kamath, 2016, Drug Discovery Today: Technologies 21-22: 75-83, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Непрерывное производство HuPTM mAb или HuPTM Fab in situ позволяет избежать повторного введения и позволяет использовать Fab, которые в противном случае имели бы слишком короткий системный период полужизни, для достижения эффективности; и описанные способы введения обеспечивают прямой доступ к целевым тканям, таким как головной мозг, причем может быть достигнута доставка более высоких доз в такие ткани.

(ii) Область Fab ряда терапевтических mAb обладает сайтами гликозилирования. Например, смотрите фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5D, 6, 7A-7B, 8A-8H и 9A-9B, которые идентифицируют и выделяют синим и зеленым, соответственно, консенсусные и неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину («N»), а также остатки глутамина («Q»), которые являются сайтами гликозилирования в области Fab определенных терапевтических mAb. (Смотрите, например, публикации Valliere-Douglass et al., 2009, J. Biol. Chem. 284: 32493-32506 и Valliere-Douglass et al., 2010, J. Biol. Chem. 285: 16012-16022, каждая из которых полностью включена посредством ссылки для идентификации N-связанных сайтов гликозилирования в антителах). Кроме того, O-гликозилирование предусматривает добавление N-ацетилгалактозамина к остаткам серина или треонина ферментом. Было продемонстрировано, что аминокислотные остатки, присутствующие в шарнирной области антител, могут быть O-гликозилированными. Возможность O-гликозилирования дает другое преимущество представленным в настоящем документе терапевтическим антителам, по сравнению, например, с антигенсвязывающими фрагментами, производимыми в *E. coli*, опять же, поскольку *E. coli* в природе не содержит механизма, эквивалентного тому, который

используется при О-гликозилировании у людей. (Вместо этого, О-гликозилирование в *E. coli* было продемонстрировано только тогда, когда бактерии модифицированы, чтобы содержать специфические механизмы О-гликозилирования. Смотрите, например, Farid-Moayer et al., 2007, J. Bacteriol. 189:8088-8098). Кроме того, аминокислотная последовательность Fab может быть модифицирована для конструирования гипергликозилированных вариантов (например, смотрите аминокислотные замены, которые могут быть сделаны для конструирования гипергликозилированных Fab-областей терапевтических антител, показанных на фиг. 11A и 11B; и публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для описания производных антител, которые гипергликозилированы в Fab-домене полноразмерного антитела).

(iii) В дополнение к сайтам гликозилирования, области Fab могут содержать сайты сульфатирования тирозина («Y») в CDR или вблизи них; смотрите фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5D, 6, 7A-7B, 8A-8H и 9A-9B, которые идентифицируют сайты тирозин-О-сульфатирования в области Fab некоторых терапевтических mAb, как выделено желтым (Смотрите, например, публикацию Yang et al., 2015, Molecules 20: 2138-2164 (в частности, в 2154), которая полностью включена посредством ссылки для анализа аминокислот, окружающих остатки тирозина, подвергнутых сульфатированию белка тирозина). «Правила» могут быть обобщены следующим образом: Y остатки с E или D в пределах от +5 до -5 положения Y, и где положение -1 Y представляет собой нейтральную или кислую заряженную аминокислоту, но не основную аминокислоту, например, R, K или H, что устраняет сульфатирование.

(iv) гликозилирование Fab-областей, таких как те, что показаны на фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5D, 6, 7A-7B, 8A-8H и 9A-9B, клетками человека будет приводить к добавлению гликанов, которые могут улучшить стабильность, период полужизни и уменьшить нежелательные агрегацию и/или иммуногенность трансгенного продукта. (Смотрите, например, Bovenkamp et al., 2016, J. Immunol. 196: 1435-1441, для обзора растущей важности гликозилирования Fab; и фиг. 10, на которой идентифицированы гликаны, которые могут быть присоединены к HuGlyFab (адаптировано из Bondt et al., 2014, Mol & Cell Proteomics 13.1: 3029-2029)). Было показано, что Fab- и Fc-фрагменты антител имеют различные паттерны гликозилирования, причем Fab-гликаны обладают высоким уровнем галактозилирования, сиалилирования и деления пополам (например, с помощью деления GlcNAc), но низким фукозилированием по отношению к Fc-гликанам.

(Например, смотрите публикацию Bondt et al., 2014, Mol. & Cell. Proteomics 13.11:3029-3039, полностью включенную в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов).

(v) Существенно, что гликаны, которые добавляют к HuGlyFab по настоящему изобретению, представляют собой высокопроцессированные N-гликаны комплексного типа, которые содержат 2,6-сиаловую кислоту. Такие гликаны не присутствуют в (a) терапевтических mAb, производимых в *E. coli* (которые вообще не гликозилированы); (b) в терапевтических антителах, производимых в клетках CHO, которые не имеют 2,6-сиалилтрансферазы, необходимой для добавления 2,6-сиаловой кислоты во время гликозилирования; или (c) в терапевтических антителах, производимых либо в CHO, либо в мышиных клеточных линиях, которые добавляют N-гликолилнейраминовую кислоту («Neu5Gc» или «NeuGc»), которая не является природной для человека (и потенциально иммуногенной), вместо N-ацетилнейраминовой кислоты («Neu5Ac») - преобладающей сиаловой кислоты человека. Смотрите, например, публикации Dumont et al., 2015, Crit. Rev. Biotechnol. 36(6):1110-1122; Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207 (NeuGc является преобладающей сиаловой кислотой в мышиных клеточных линиях, таких как SP2/0 и NS0) и Song et al., 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

(vi) Человеческий паттерн гликозилирования HuGlyFab по настоящему изобретению должен снижать иммуногенность трансгенного продукта и повышать эффективность. Важно, что когда антигенсвязывающие фрагменты, используемые в соответствии с описанными в настоящем документе способами, экспрессируются в целевых клетках человека, избегается необходимость производства *in vitro* в прокариотических клетках-хозяевах (например, *E. coli*) или в эукариотических клетках-хозяевах (например, в клетках CHO или мышиных клетках NS0 или SP2/0). Вместо этого, в результате описанных в настоящем документе способов (например, использование целевых клеток человека для экспрессии антигенсвязывающих фрагментов), сайты N-гликозилирования антигенсвязывающих фрагментов преимущественно содержат гликаны, подходящие и применимые для лечения людей. Такое преимущество недостижимо, когда клетки CHO, мышиные клетки или *E. coli* используются в производстве антител/антигенсвязывающих фрагментов, поскольку, например, (a) в клетках CHO отсутствуют компоненты, необходимые для добавления определенных гликанов (например, 2,6-сиаловая кислота и деление пополам GlcNAc); (b) клетки CHO и мышиные клетки (клетки NS0 и SP2/0)

добавляют Neu5Gc в виде сиаловой кислоты, не характерной для человека, вместо Neu5Ac; (c) клетки CHO также могут производить иммуногенный гликан, антиген α-Gal, который реагирует с антителами к α-Gal, присутствующими у большинства людей, которые при высоких концентрациях могут вызывать анафилаксию (смотрите, например, Bosques, 2010, Nat Biotech 28:1153-1156); и (d) *E. coli* не содержит в природе компонентов, необходимых для N-гликозилирования.

(vii) тирозинсульфатирование областей Fab, таких как показанные на фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5D, 6, 7A-7B, 8A-8H и 9A-9B - мощный посттрансляционный процесс во многих клетках человека - должен приводить к трансгенным продуктам с повышенной авидностью для их молекулярных мишеней. Действительно, было показано, что сульфатирование тирозином Fab антител резко увеличивает авидность к антигену и активность. (Смотрите, например, Loos et al., 2015, PNAS 112: 12675-12680 и Choe et al., 2003, Cell 114: 161-170). Такие посттрансляционные модификации не присутствуют на терапевтических антителах, полученных в *E. coli* (хозяине, который не обладает ферментами, необходимыми для сульфатирования тирозина), и в лучшем случае недостаточно представлены в терапевтических mAb, полученных в клетках CHO. Клетки CHO не являются секреторными клетками и обладают ограниченной способностью к посттрансляционному сульфатированию тирозина. (Смотрите, например, Loos et al., 2015, PNAS 112: 12675-12680 и Choe et al., 2003, Cell 114: 161-170, особенно обсуждение на стр. 1537).

[12] По вышеизложенным причинам, производство HuPTM mAb или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения заболевания, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей полноразмерное или HuPTM Fab терапевтическое mAb пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностирован признак заболевания для этого mAb, для создания у субъекта постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий гликозилированный сульфатированный трансгенный продукт, производимый трансдуцированными клетками субъекта. Конструкция кДНК для HuPTMmAb или HuPTM Fab должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками человека.

[13] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения полноразмерный или HuPTM Fab может быть получен в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК, а гликопротеин может вводиться пациентам.

[14] Комбинированные терапии, предусматривающие доставку полноразмерного или HuPTM Fab пациенту, сопровождаемую введением других доступных способов лечения, охватываются способами по настоящему изобретению. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Такие дополнительные способы лечения могут включать в себя, без ограничения, совместную терапию с терапевтическим mAb.

[15] Также предусмотрены способы изготовления вирусных векторов, в частности вирусных векторов на основе AAV. Согласно конкретным вариантам осуществления предусмотрены способы получения рекомбинантных AAV, предусматривающие культивирование клетки-хозяина, содержащей искусственный геном, содержащий цис-экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем цис-экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий терапевтическое антитело, функционально связанное с элементами контроля экспрессии, которые будут контролировать экспрессию трансгена в клетках человека; транс-экспрессионную кассету, в которой отсутствуют ITR AAV, причем транс-экспрессионная кассета кодирует белок rep и капсида AAV, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией белков rep и капсида AAV в клетке-хозяине в культуре и обеспечивают белки rep и cap in trans; достаточные вспомогательные функции аденовируса для репликации и упаковки искусственного генома белками капсида AAV; и восстановление рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственный геном, из культуры клеток.

3.1 ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Композиция

1. Фармацевтическая композиция для лечения болезни Альцгеймера, мигреней, кластерных головных болей или таупатий, включая в себя хроническую травматическую энцефалопатию, прогрессирующий надъядерный паралич и лобно-височную деменцию у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор аденоассоциированного вируса (AAV), содержащего:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 80), и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к амилоиду бета, к тау или к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально

связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека;

причем указанный вектор AAV составлен для интратекального введения в ЦНС указанного субъекта.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой mAb к амилоиду β представляет собой адуканумаб, кренезумаб, гантенумаб или BAN2401, а mAb к тау представляет собой aTAU, а к CGRPR представляет собой эренумаб, эптинезумаб, фреманезумаб или галканезумаб.

3. Фармацевтическая композиция по пп. 1 или 2, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или одноцепочечный вариабельный домен (scFv).

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-3, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 53 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 57 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58.

5. Фармацевтическая композиция по п. 4, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 101, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 102, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 103, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 104, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 105, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 106, кодирующую легкую цепь; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 153 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 154; тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 155 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 156 или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 157 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 158.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-4, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-6, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, который направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках ЦНС человека.

8. Фармацевтическая композиция по п. 7, в которой указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или сигнальную последовательность из таблицы 1.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, в которой капсид AAV представляет собой AAV9.

10. Фармацевтическая композиция для лечения атопического дерматита у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к IL4R или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

11. Фармацевтическая композиция по п. 10, в которой mAb к IL4R представляет собой дупилумаб.

12. Фармацевтическая композиция по п. 10 или 11, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 10-12, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8.

14. Фармацевтическая композиция по п. 13, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 107, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 108, кодирующую легкую цепь.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 10-13, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 10-15, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

18. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 10-17, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

19. Фармацевтическая композиция для лечения псориаза, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита или болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к IL17A или к IL12/IL23 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

20. Фармацевтическая композиция по п. 19, в которой mAb к IL17A или к IL12/IL23 представляет собой иксекизумаб, секукинумаб или устекинумаб.

21. Фармацевтическая композиция по п. 19 или 20, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

22. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 19-21, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14.

23. Фармацевтическая композиция по п. 22, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 109, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 110, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 111, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 112, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 113, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 114, кодирующую легкую цепь.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 19-22, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

25. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 19-24, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

26. Фармацевтическая композиция по п. 25, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

27. Фармацевтическая композиция по любому из пп.19-26, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

28. Фармацевтическая композиция для лечения астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к IL-5 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

29. Фармацевтическая композиция по п. 28, в которой mAb к IL-5 представляет собой меполизумаб.

30. Фармацевтическая композиция по пп. 28 или 29, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-30, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16.

32. Фармацевтическая композиция по п. 31, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 115, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 116, кодирующую легкую цепь.

33. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-31, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

34. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-33, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

35. Фармацевтическая композиция по п. 34, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

36. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-35, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

37. Фармацевтическая композиция для лечения рассеянного склероза, язвенного колита или болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 80); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека, мышечных клетках человека или клетках ЦНС человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцы указанного субъекта или для интратекального введения в ЦНС указанного субъекта.

38. Фармацевтическая композиция по п. 37, в которой mAb к интегрину представляет собой ведолизумаб или натализумаб.

39. Фармацевтическая композиция по п. 37 или 38, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

40. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-39, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20.

41. Фармацевтическая композиция по п. 40, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 117, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 118, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 119, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 120, кодирующую легкую цепь.

42. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-41, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

43. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-42, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

44. Фармацевтическая композиция по п. 43, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 1, 2 или 3.

45. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-44, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

46. Фармацевтическая композиция для лечения HeFH, HoFH, дислипидемии, сердечно-сосудистых заболеваний, включая в себя атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (ACD), образование атеросклеротических бляшек, аномально высокие уровни не-HDL холестерина и LDL, аортальный стеноз, стеноз печени или гиперхолестеринемию, у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к PCSK9,

к ANGPTL3 или к OxPL или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;
причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

47. Фармацевтическая композиция по п. 46, в которой mAb к PCSK9 или к ANGPTL3 представляет собой алирокумаб, эволокумаб или эвинакумаб или к OxPL представляет собой E06.

48. Фармацевтическая композиция по п. 46 или 47, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

49. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 46-48, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 25 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 26; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60.

50. Фармацевтическая композиция по п. 49, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 121, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 122, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 123, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 124, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 125, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 126, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 159, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 160, кодирующую легкую цепь.

51. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 44-50, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

52. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 44-51, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и

посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

53. Фармацевтическая композиция по п. 52, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

54. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 44-53, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

55. Фармацевтическая композиция для лечения остеопороза у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к RANKL или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

56. Фармацевтическая композиция по п. 55, в которой mAb к RANLK представляет собой деносумаб.

57. Фармацевтическая композиция по п. 55 или 56, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

58. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55-57, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 27 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 28.

59. Фармацевтическая композиция по п. 58, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 127, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 128, кодирующую легкую цепь.

60. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55-59, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

61. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55-60, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и

посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

62. Фармацевтическая композиция по п. 61, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

63. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55-62, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

64. Фармацевтическая композиция для лечения метастатической меланомы, лимфомы или немелкоклеточной карциномы легкого у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb-блокатор PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

65. Фармацевтическая композиция по п. 64, в которой mAb-блокатор PD-1 представляет собой ниволумаб или пембролизумаб.

66. Фармацевтическая композиция по пп. 64 или 65, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

67. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 64-66, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 29 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 30 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 31 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 32.

68. Фармацевтическая композиция по п. 67, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 130, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 132, кодирующую легкую цепь.

69. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 64-68, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

70. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 64-69, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

71. Фармацевтическая композиция по п. 70, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

72. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 64-71, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

73. Фармацевтическая композиция для лечения системной красной волчанки (SLE) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к BLyS или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

74. Фармацевтическая композиция по п. 73, в которой mAb к BLyS представляет собой белимумаб.

75. Фармацевтическая композиция по пп. 73 или 74, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

76. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 73-75, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 41 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42.

77. Фармацевтическая композиция по п. 76, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 141, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 142, кодирующую легкую цепь.

78. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 73-77, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

79. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 73-78, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

80. Фармацевтическая композиция по п. 79, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

81. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 73-80, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

82. Фармацевтическая композиция для лечения нарушений глаз, включая в себя возрастную макулярную дегенерацию, у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к MMP9, к VEGF или к fD или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательности, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека;

причем указанный вектор AAV составлен для субретинального, интравитреального или супрахориоидального введения в глаз указанного субъекта.

83. Фармацевтическая композиция по п. 82, в которой mAb к VEGF представляет собой ранибизумаб, бевацизумаб или бролуцизумаб, указанное mAb к Fd представляет собой лампализумаб или указанное mAb к MMP9 представляет собой андекаликсимаб.

84. Фармацевтическая композиция по пп. 82 или 83, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

85. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 82-84, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 33 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 34 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 35 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 36; или тяжелую цепь с аминокислотной

последовательностью SEQ ID NO: 37 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 38; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 39 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 45 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 46.

86. Фармацевтическая композиция по п. 85, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 133, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 134, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 135, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 136, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 137, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 138, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 139, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 140, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 145, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 146, кодирующую легкую цепь.

87. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 82-85, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

88. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 82-87, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках сетчатки человека.

89. Фармацевтическая композиция по п. 88, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 1.

90. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 82-89, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

91. Фармацевтическая композиция для лечения ревматоидного артрита, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита, болезни Крона, бляшечного псориаза или язвенного колита у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий антитело к TNF или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения указанному субъекту.

92. Фармацевтическая композиция по п. 91, в которой mAb к TNF-альфа представляет собой адалимумаб или инфликсимаб.

93. Фармацевтическая композиция по п. 91 или 92, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

94. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 91-93, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 49 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 50 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 51 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52.

95. Фармацевтическая композиция по п. 94, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 149, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 150, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 151, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 152, кодирующую легкую цепь.

96. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 91-94, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

97. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 91-96, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

98. Фармацевтическая композиция по п. 97, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

99. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 91-98, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

100. Фармацевтическая композиция для лечения пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH) или атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к белку комплемента C5 или C5a или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения указанному субъекту.

101. Фармацевтическая композиция по п. 100, в которой mAb к белку комплемента C5 или C5a представляет собой экулизумаб.

102. Фармацевтическая композиция по пп. 100 или 101, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

103. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 100-102, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44.

104. Фармацевтическая композиция по п. 103, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 143, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 144, кодирующую легкую цепь.

105. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 101-104, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

106. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 100-105, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека.

107. Фармацевтическая композиция по п. 106, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 3.

108. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 101-107, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

109. Фармацевтическая композиция для лечения наследственного ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащая:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к калликреину плазмы или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения указанному субъекту.

110. Фармацевтическая композиция по п. 109, в которой mAb к калликреину плазмы представляет собой ланаделумаб.

111. Фармацевтическая композиция по п. 109 или 111, в которой антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

112. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 109-111, в которой антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 47 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 48.

113. Фармацевтическая композиция по п. 112, в которой трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 147, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 148, кодирующую легкую цепь.

114. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 110-113, в которой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

115. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 109-114, в которой трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека.

116. Фармацевтическая композиция по п. 115, в которой указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 3.

117. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 110-116, в которой капсид AAV представляет собой AAV8.

Способ лечения

118. Способ лечения болезни Альцгеймера, мигреней, кластерных головных болей или таупатий, включая в себя хроническую травматическую энцефалопатию, прогрессирующий надъядерный паралич и лобно-височную деменцию, у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в спинномозговую жидкость (CSF) указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к амилоиду бета, к тау или к CGRPR или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками центральной нервной системы человека (ЦНС).

119. Способ лечения болезни Альцгеймера, мигреней, кластерных головных болей или таупатий, включая в себя хроническую травматическую энцефалопатию, прогрессирующий надъядерный паралич и лобно-височную деменцию у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в заднюю мозжечково-мозговую цистерну указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к амилоиду бета, к тау или к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одним или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека, так что образуется депо, которое высвобождает человеческую посттрансляционно модифицированную (HuPTM) форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

120. Способ по пп. 118 или 119, при котором mAb к амилоиду бета представляет собой адуканумаб, кренезумаб, гантенумаб или BAN2401 или при котором mAb к тау представляет собой aTAU, или при котором к CGRPR представляет собой эренумаб, эптинезумаб, фреманезумаб или галканезумаб.

121. Способ по любому из пп. 118-120, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

122. Способ по любому из пп. 118-121, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 53 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55 и легкую цепь с аминокислотной

последовательностью SEQ ID NO: 56; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 57 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58.

123. Способ по п. 122, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 101, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 102, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 103, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 104, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 105, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 106, кодирующую легкую цепь; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 153 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 154; тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 155 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 156; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 157 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 158.

124. Способ по любому из пп. 118-122, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

125. Способ по любому из пп. 118-124, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

126. Способ по любому из пп. 118-125, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилированы, но не содержат обнаруживаемого NeuGc и/или α-Gal.

127. Способ по любому из пп. 118-126, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

128. Способ по любому из пп. 119-127, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV9 или AAVrh10.

129. Способ по любому из пп. 119-128, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдуцирования клеток ЦНС человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

130. Способ лечения псориаза, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита или болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически

эффективного количества mAb к IL17A или к IL12/IL23 или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

131. Способ лечения псориаза, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита или болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к IL17A или к IL12/IL23 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательности, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

132. Способ по п. 130 или 131, при котором mAb к IL17A или к IL12/IL23 представляет собой иксекизумаб, секукинумаб или устекинумаб.

133. Способ по любому из пп. 130-132, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

134. Способ по любому из пп. 130-133, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14.

135. Способ по п. 134, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 109, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 110, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 111, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 112, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 113, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 114, кодирующую легкую цепь.

136. Способ по любому из пп. 132-134, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

137. Способ по любому из пп. 132-136, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

138. Способ по любому из пп. 132-137, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемого NeuGc или α-Gal.

139. Способ по любому из пп. 132-138, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

140. Способ по любому из пп. 133-139, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

141. Способ по любому из пп. 133-140, при котором получение указанной формы HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

142. Способ лечения рассеянного склероза, язвенного колита или болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в CSF или кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к интегрину или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками ЦНС человека, клетками печени человека или мышечными клетками человека.

143. Способ лечения рассеянного склероза, язвенного колита или болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в ЦНС, печень или мышцу указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека, клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или антигенсвязывающего фрагмента.

144. Способ по пп. 142 или 143, при котором mAb к интегрину представляет собой натализумаб или ведолизумаб.

145. Способ по любому из пп. 142-144, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

146. Способ по любому из пп. 142-145, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20.

147. Способ по п. 146, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 117, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 118, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 119, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 120, кодирующую легкую цепь.

148. Способ по любому из пп. 142-145, при котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

149. Способ по любому из пп. 142-148, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

150. Способ по любому из пп. 142-149, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемые NeuGc или α-Gal.

151. Способ по любому из пп. 142-150, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

152. Способ по любому из пп. 143-151, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8, AAV9 или AAVrh10.

153. Способ по любому из пп. 143-152, при котором получение формы HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток ЦНС человека, клеток печени человека или мышечных клеток в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

154. Способ лечения атопического дерматита у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к IL4R или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

155. Способ лечения атопического дерматита у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к IL4R или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM-форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

156. Способ по пп. 154 или 155, при котором mAb к IL-4R представляет собой дупилумаб.

157. Способ по любому из пп. 154-156, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

158. Способ по любому из пп. 154-157, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8.

159. Способ по п. 158, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 107, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 108, кодирующую легкую цепь.

160. Способ по любому из пп. 154-158, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

161. Способ по любому из пп. 154-160, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

162. Способ по любому из пп. 154-161, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемые NeuGc или α-Gal.

163. Способ по любому из пп. 154-162, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

164. Способ по любому из пп. 155-163, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

165. Способ по любому из пп. 155-164, при котором получение формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

166. Способ лечения астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к IL-5 или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

167. Способ лечения астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к IL-5 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально

связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

168. Способ по пп. 166 или 167, при котором mAb к IL-5 представляет собой меполизумаб.

169. Способ по любому из пп. 166-168, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

170. Способ по любому из пп. 166-159, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16.

171. Способ по п. 170, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 115, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 116, кодирующую легкую цепь.

172. Способ по любому из пп. 166-170, при котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

173. Способ по любому из пп. 166-172, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа2,6-сиалилированный гликан.

174. Способ по любому из пп. 166-173, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемые NeuGc или α-Gal.

175. Способ по любому из пп. 166 до 174, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

176. Способ по любому из пп. 167-175, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

177. Способ по любому из пп. 167-176, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

178. Способ лечения HeFH, HoFH, дислипидемии, сердечно-сосудистых заболеваний, включая в себя атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (ACD), образование атеросклеротических бляшек, аномально высокие уровни не-HDL холестерина и LDL, аортальный стеноз, стеноз печени или гиперхолестеринемию и дислипидемию у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку

в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к PCSK9, к ANGPTL3, к OxPL или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

179. Способ лечения HeFH, HoFH, дислипидемии, сердечно-сосудистых заболеваний, включая в себя атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (ACD), образование атеросклеротических бляшек, аномально высокие уровни не-HDL холестерина и LDL, аортальный стеноз, стеноз печени или гиперхолестеринемию, у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к PCSK9, к OxPL или к ANGPTL3 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

180. Способ по пп. 178 или 179, при котором mAb к PCSK9 представляет собой алирокумаб или эволокумаб или mAb к ANGPTL3 представляет собой эвинакумаб или к OxPL представляет собой E06.

181. Способ по любому из пп. 178-180, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

182. Способ по любому из пп. 178-181, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 25 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 26; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60.

183. Способ по п. 182, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 121, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 122, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 123, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 124, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 125, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную

последовательность SEQ ID NO: 126, кодирующую легкую цепь; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 159 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 160.

184. Способ по любому из пп. 178-182, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

185. Способ по любому из пп. 178-184, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа2,6-сиалилированный гликан.

186. Способ по любому из пп. 178-185, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемые NeuGc или α-Gal.

187. Способ по любому из пп. 178-186, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

188. Способ по любому из пп. 179-187, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

189. Способ по любому из пп. 179-188, при котором получение указанной формы HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени человека или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

190. Способ лечения остеопороза, увеличения костной массы у пациентов с раком молочной железы или предстательной железы или предотвращения связанных со скелетом событий из-за метастазирования в кости у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к RANKL или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

191. Способ лечения остеопороза, увеличения костной массы у пациентов с раком молочной железы или предстательной железы или предотвращения связанных со скелетом событий из-за метастазирования в кости у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к RANKL или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных

клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM mAb или ее антигенсвязывающего фрагмента.

192. Способ по п. 190 или 191, где анти-RANKL mAb представляет собой деносумаб.

193. Способ по любому из пп. 190-192, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

194. Способ по любому из пп. 190-193, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 27 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 28.

195. Способ по п. 194, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 128, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 127, кодирующую легкую цепь.

196. Способ по любому из пп. 190-194, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

197. Способ по любому из пп. 190-196, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

198. Способ по любому из пп. 190-197, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемые NeuGc или α-Gal.

199. Способ по любому из пп. 190-198, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

200. Способ по любому из пп. 191-199, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

201. Способ по любому из пп. 191-200, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

202. Способ лечения метастатической меланомы, лимфомы, немелкоклеточной карциномы легкого, плоскоклеточного рака головы и шеи, уротелиальной карциномы, рака с высокой микросателлитной нестабильностью, рака желудка, почечно-клеточной карциномы, метастатического рака толстой кишки с дефицитом репарации неспаренных оснований и гепатоцеллюлярной карциномы у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb-блокатора PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

203. Способ лечения метастатической меланомы, лимфомы, немелкоклеточной карциномы легкого, плоскоклеточного рака головы и шеи, уротелиальной карциномы, рака с высокой микросателлитной нестабильностью, рака желудка, почечно-клеточной карциномы, метастатического рака толстой кишки с дефицитом репарации неспаренных оснований и гепатоцеллюлярной карциномы у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb-блокатор PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM-форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

204. Способ по п. 202 или 203, при котором mAb-блокатор PD-1 представляет собой ниволумаб или пембролизумаб.

205. Способ по любому из пп. 202-204, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

206. Способ по любому из пп. 202-205, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 29 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 30 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 31 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 32.

207. Способ по п. 206, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 130, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 132, кодирующую легкую цепь.

208. Способ по любому из пп. 202-206, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

209. Способ по любому из пп. 202-208, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

210. Способ по любому из пп. 202-209, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемые NeuGc или α-Gal.

211. Способ по любому из пп. 202-210, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

212. Способ по любому из пп. 203-211, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

213. Способ по любому из пп. 203-212, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

214. Способ лечения системной красной волчанки (SLE) у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к BLyS или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

215. Способ лечения SLE у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к BLyS или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или в мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

216. Способ по пп. 214 или 215, при котором mAb к BLyS представляет собой белимумаб.

217. Способ по любому из пп. 214-216, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

218. Способ по любому из пп. 214-217, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 41 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42.

219. Способ по п. 218, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 139, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 142, кодирующую легкую цепь.

220. Способ по любому из пп. 214-218, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

221. Способ по любому из пп. 214-220, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

222. Способ по любому из пп. 214-221, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемый NeuGc или α-Gal.

223. Способ по любому из пп. 214-222, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

224. Способ по любому из пп. 215-223, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

225. Способ по любому из пп. 215-224, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным нуклеотидным вектором экспрессии и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

226. Способ лечения нарушения глаз, включая в себя неоваскулярную возрастную макулярную дегенерацию (nAMD), сухую форму AMD, диабетическую ретинопатию, диабетический макулярный отек (DME), окклюзию центральной вены сетчатки (RVO), патологическую миопию или полипоидную сосудистую васкулопатию, у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку к сетчатке указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к MMP9, к VEGF или к fD или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками сетчатки человека.

227. Способ лечения нарушения глаз, включая в себя nAMD, сухую форму AMD, диабетическую ретинопатию, DME, RVO, патологическую миопию или полипоидную хориоидальную васкулопатию, у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение субретинально, интравитреально или супрахориоидально указанному субъекту-человеку терапевтически эффективного количества рекомбинантного нуклеотидного вектора экспрессии, содержащего трансген, кодирующий mAb к MMP9, к VEGF или к fD или его антигенсвязывающего фрагмента, функционально связанного с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

228. Способ по пп. 226 или 227, при котором mAb к MMP9, к VEGF или к fD представляет собой андекаликсимаб, ранибизумаб, бевацизумаб, бролуцизумаб или лампализумаб.

229. Способ по любому из пп. 226-228, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

230. Способ по любому из пп. 226-229, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 33 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 34 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 35 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 36; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 37 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 38; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 39 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 45 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 46.

231. Способ по п. 230, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 133, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 134, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 135, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 136, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 137, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 138, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 139, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 140, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 145, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 146, кодирующую легкую цепь.

232. Способ по любому из пп. 226-230, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

233. Способ по любому из пп. 226-232, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

234. Способ по любому из пп. 226-233, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемые NeuGc или α-Gal.

235. Способ по любому из пп. 226-234, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

236. Способ по любому из пп. 227-235, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

237. Способ по любому из пп. 227-236, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток сетчатки человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

238. Способ лечения муковисцидоза (CF), ревматоидного артрита (RA), UC, CD, солидных опухолей, аденокарциномы поджелудочной железы, аденокарциномы легких, плоскоклеточной карциномы легких, пищеводно-желудочной аденокарциномы, рака желудка, колоректального рака или рака молочной железы у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к MMP9 или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

239. Способ лечения муковисцидоза (CF), ревматоидного артрита (RA), UC, CD, солидных опухолей, аденокарциномы поджелудочной железы, аденокарциномы легких, плоскоклеточной карциномы легких, пищеводно-желудочной аденокарциномы, рака желудка, колоректального рака или рака молочной железы у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к MMP9 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или в мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

240. Способ по п. 238 или 239, при котором mAb к MMP9 представляет собой андекаликсимаб.

241. Способ по любому из пп. 238-240, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

242. Способ по любому из пп. 238-224, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 45 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 46.

243. Способ по п. 242, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 145, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 146, кодирующую легкую цепь.

244. Способ по любому из пп. 238-242, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

245. Способ по любому из пп. 238-244, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

246. Способ по любому из пп. 238-245, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемые NeuGc или α-Gal.

247. Способ по любому из пп. 238-246, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

248. Способ по любому из пп. 239-247, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

249. Способ по любому из пп. 239-248, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

250. Способ лечения наследственного ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к калликреину или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

251. Способ лечения наследственного ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к калликреину или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или в мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

252. Способ по п. 250 или 251, при котором mAb к калликреину представляет собой ланаделумаб.

253. Способ по любому из пп. 250-252, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

254. Способ по любому из пп. 250-253, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 47 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 48.

255. Способ по п. 254, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 147, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 148, кодирующую легкую цепь.

256. Способ по любому из пп. 250-255, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

257. Способ по любому из пп. 250-256, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

258. Способ по любому из пп. 250-257, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемый NeuGc или α-Gal.

259. Способ по любому из пп. 250-258, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

260. Способ по любому из пп. 251-259, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

261. Способ по любому из пп. 251-260, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

262. Способ лечения ревматоидного артрита, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита, болезни Крона, бляшечного псориаза или язвенного колита у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества mAb к TNF-альфа или его антигенсвязывающего фрагмента, производимого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

263. Способ лечения ревматоидного артрита, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита, болезни Крона, бляшечного псориаза или язвенного колита у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного нуклеотидного вектора экспрессии, содержащего трансген, кодирующий mAb к TNF-альфа или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые

контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или в мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

264. Способ по п. 262 или 263, при котором mAb к TNF-альфа представляет собой адалимумаб или инфликсимаб.

265. Способ по любому из пп. 262-264, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

266. Способ по любому из пп. 262-265, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 49 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 50 или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 51 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52.

267. Способ по п. 26, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 149, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 150, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 151, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 152, кодирующую легкую цепь.

268. Способ по любому из пп. 262-266, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

269. Способ по любому из пп. 262-268, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

270. Способ по любому из пп. 262-269, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемый NeuGc или α-Gal.

271. Способ по любому из пп. 262-270, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

272. Способ по любому из пп. 263-271, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

273. Способ по любому из пп. 263-272, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

274. Способ лечения PNH или aHUS у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически

эффективного количества mAb к белку C5 или C5a или его антигенсвязывающего фрагмента, произведенного клетками печени человека.

275. Способ лечения PNH или aHUS у нуждающегося в этом субъекта-человека, предусматривающий:

введение в печень указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий mAb к белку C5 или C5a или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека, так что образуется депо, которое высвобождает форму HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

276. Способ по пп. 274-275, при котором mAb к белку C5 или C5a или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой экулизумаб.

277. Способ по любому из пп. 274-276, при котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

278. Способ по любому из пп. 274-277, при котором антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44.

279. Способ по п. 28, при котором трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 143, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 144, кодирующую легкую цепь.

280. Способ по любому из пп. 274-279, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

281. Способ по любому из пп. 274-280, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

282. Способ по любому из пп. 274-281, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент является гликозилированным, но не содержит обнаруживаемый NeuGc или α-Gal.

283. Способ по любому из пп. 274-282, при котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

284. Способ по любому из пп. 275-28, при котором рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

285. Способ по любому из пп. 275-284, при котором получение указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждают путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре указанным

рекомбинантным вектором экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способ изготовления

286. Способ получения рекомбинантных AAV, предусматривающий:

(a) культивирование клетки-хозяина, содержащей:

(i) искусственный геном, содержащий цис-экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем цис-экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий терапевтическое антитело, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые будут контролировать экспрессию трансгена в клетках человека;

(ii) транс-экспрессионную кассету, в которой отсутствуют ITR AAV, причем транс-экспрессионная кассета кодирует белок rep и капсида AAV, функционально связанную с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией белков rep и капсида AAV в клетке-хозяине в культуре и обеспечивают белки rep и cap in trans;

(iii) достаточные вспомогательные функции аденовируса для репликации и упаковки искусственного генома белками капсида AAV и

(b) восстановление рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственный геном, из культуры клеток.

287. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей адуканумаба, кренезумаба, гантенерумаба, BAN2401, aTAU, эренумаба, эптинезумаба, фреманезумаба или галканезумаба.

288. Способ по п. 286 или 287, при котором белок капсида AAV представляет собой белок капсида AAV9 или AAVrh10.

289. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей иксекизумаба, секукинумаба или устекинумаба.

290. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей натализумаба или ведолизумаба.

291. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей дупилумаба.

292. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей меполизумаба.

293. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей алирокумаба, эволокумаба, эвинакумаба или E06.

294. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей деносумаба.

295. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей ниволумаба или пембролизумаба.

296. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей белимумаба.

297. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей ранибизумаба, бевацизумаба или лампализумаба.

298. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей андекаликсимаба.

299. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей ланаделумаба.

300. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей адалимумаба или инфликсимаба.

301. Способ по п. 286, при котором трансген кодирует mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей экулизумаба.

302. Способ по любому из пп. 286 или 289-301, при котором белок капсида AAV представляет собой белок капсида AAV8 или AAV9.

4. Краткое описание чертежей

[16] Файл патента или заявки содержит по меньшей мере один графический материал, выполненный в цвете. Копии этого патента или публикации патентной заявки с цветными графическими материалами будут предоставлены Ведомством по запросу и уплате необходимой пошлины.

[17] Фиг. 1. Схема конструкции генома вектора rAAV, содержащего экспрессионную кассету, кодирующую тяжелые и легкие цепи Fab-области терапевтического mAb, контролируемую элементами экспрессии, фланкированными ITR AAV.

[18] Фиг. 2A-F. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к мишеням ЦНС: к Aβ, Fab адуканумаба (фиг. 2A); к Aβ, Fab кренезумаба (фиг. 2B); к Aβ, Fab гантенерумаба (фиг. 2C), к тау-белку, Fab aTAU (фиг. 2D) и к CGRPR, Fab эренумаба (фиг. 2E) и к Aβ BAN2401 (фиг. 2F). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину выделены зеленым цветом; сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены пурпурным цветом; и неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены синим цветом; сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) выделены желтым цветом. Области петли тяжелой цепи выделены серым цветом.

[19] Фиг. 3A-E. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к интерлейкинам: к IL4R, дупилумаб (фиг. 3A); к IL-17, иксекизумаб (фиг. 3B); секукинумаб (фиг. 3C); к IL-12/IL-23, устекинумаб (фиг. 3D) и к IL5, меполизумаб (фиг. 3E). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину выделены зеленым, а неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены синим цветом; сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) выделены желтым цветом. Области петли тяжелой цепи выделены серым цветом.

[20] Фиг. 4A-4B. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к интегрину: ведолизумаб (фиг. 4A) и натализумаб (фиг. 4B). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину выделены зеленым, а неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены синим цветом; сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) выделены желтым цветом. Области петли тяжелой цепи выделены серым цветом.

[21] Фиг. 5A-D. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к PCSK9: алирокумаб (фиг. 5A); эволокумаб (фиг. 5B); ANGPTL3: эвинакумаб (фиг. 5C), OxPL: E06-scFv. Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину выделены зеленым, а неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены синим цветом; сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) выделены желтым цветом. Области петли выделены серым цветом.

[22] Фиг. 6. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области деносумаба, терапевтического антитела к RANKL. Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину выделены зеленым, а неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены синим цветом; сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) выделены желтым цветом. Шарнирная область выделена серым цветом.

[23] Фиг. 7A и B. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител, которые являются блокаторами PD-1: ниволумаб (фиг. 7A) и пембролизумаб (фиг. 7B). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину выделены зеленым, а неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены синим цветом; сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) выделены желтым цветом. Области петли выделены серым цветом.

[24] Фиг. 8A-H. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител, направленных на биологические факторы: к VEGF, ранибизумаб (фиг. 8A), бевацизумаб (фиг. 8B) и бролуцизумаб (фиг. 8D); к fD, лампализумаб (фиг. 8C); к BLyS, белимумаб (фиг. 8E); к белку комплемента C5 человека, экулизумаб (фиг. 8F); к MMP 9, андекаликсимаб (фиг. 8G) и к калликреину, ланаделумаб (фиг. 8H). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину выделены зеленым, а неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены синим цветом; сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) выделены желтым цветом. Области петли выделены серым цветом.

[25] Фиг. 9A и B. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтического антитела, направленного на TNF-альфа: адалимумаб (фиг. 9A) и инфликсимаб (фиг. 9B). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину выделены зеленым, а неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N) выделены синим цветом; сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) выделены желтым цветом. Области петли выделены серым цветом.

[26] Фиг. 10. Гликаны, которые могут быть присоединены к областям HuGlyFab полноразмерных mAb или антигенсвязывающих доменов. (Адаптировано из Bondt et al., 2014, Mol & Cell Proteomics 13.1: 3029-3039).

[27] Фиг. 11A и B. Выравнивание аминокислотных последовательностей тяжелой цепи (фиг. 11A) (SEQ ID NO: 283-299, 59, 300-302, 313, 303, 39 и 304-310, соответственно, по порядку) и легкой цепи (фиг. 11B) (SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26,

28, 30, 32, 34, 60, 58 36, 54, 311, 314, 312, 38, 234, 42, 44, 48, 247 и 235, соответственно, по порядку) Fab-фрагментов раскрытых в настоящем документе терапевтических антител. Положения, которые могут быть заменены для получения гипергликозилированных вариантов Fab-областей, выделены зеленым цветом. Четыре замены (одна в тяжелой цепи и три в легкой цепи), которые должны приводить к гипергликозилированию Fab-области клетками человека, указаны над положениями аминокислотных остатков. (Для конструирования mAb или антигенсвязывающих фрагментов, содержащих дополнительные сайты гликозилирования в домене Fab, смотрите, например, Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, для описания производных антител, которые гипергликозилированы в домене Fab полноразмерного антитела).

[28] Фиг. 12. Множественное выравнивание Clustal последовательностей капсидов 1-9 AAV. Аминокислотные замены (показанные жирным шрифтом в нижних рядах) могут быть сделаны для капсидов AAV9 и AAV8 путем «рекрутинга» аминокислотных остатков из соответствующего положения других выровненных капсидов AAV. Последовательность, показанная красным цветом, представляет собой гипервариабельные области. Аминокислотным последовательностям капсидов AAV присвоены SEQ ID NO следующим образом: AAV1 представляет собой SEQ ID NO: 71; AAV2 представляет собой SEQ ID NO: 72; AAV3-3 представляет собой SEQ ID NO: 73; AAV4-4 представляет собой SEQ ID NO: 74; AAV5 представляет собой SEQ ID NO: 75; AAV6 представляет собой SEQ ID NO: 76; AAV7 представляет собой SEQ ID NO: 77; AAV8 представляет собой SEQ ID NO: 78; AAV9 представляет собой SEQ ID NO: 79; hu31 представляет собой SEQ ID NO: 81 и hu32 представляет собой SEQ ID NO: 82.

5. Подробное описание изобретения

[29] Композиции и способы описаны для доставки полностью человеческого посттрансляционно модифицированного (HuPTM) терапевтического моноклонального антитела (mAb) или антигенсвязывающего фрагмента HuPTM терапевтического mAb (например, полностью человеческого гликозилированного Fab (HuGlyFab) терапевтического mAb) пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано заболевание или состояние, для которого показано лечение терапевтическим mAb. Доставка может быть преимущественно осуществлена посредством генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей терапевтическое mAb или его антигенсвязывающий фрагмент (или гипергликозилированное производное того и другого), пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано состояние, для которого показано лечение терапевтическим

mAb - для создания постоянного депо в ткани или органе пациента, которое непрерывно поставляет HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического mAb, например, человеческий гликозилированный трансгенный продукт, в целевую ткань, в которой mAb или антигенсвязывающий фрагмент оказывает свое терапевтическое действие.

[30] HuPTM mAb или HuPTM антигенсвязывающий фрагмент, кодируемый трансгеном, может включать в себя, без ограничения, полноразмерный или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического антитела, которое связывается с:

- *Мишенями нервной системы, включая в себя пептиды амилоид бета (Aβ или Abeta), тау-белок и рецептор CGRP,*
- *Интерлейкинами или рецепторами интерлейкина, включая в себя IL4R, IL17A, IL-5 и IL12/IL23,*
- *Интегринами, включая в себя интегрин-альфа-4,*
- *PCSK9, ANGPTL3 или окисленными фосфолипидами, такими как OxPL,*
- *RANKL,*
- *PD-1 или PD-L1 или PD-L2,*
- *BLyS (стимулятор B-лимфоцитов, также известный как фактор активации B-клеток (BAFF)),*
- *Мишенями глаз, включая в себя VEGF, fD и матриксную металлопротеиназу 9 (MMP9),*
- *TNF-альфа и*
- *белками-мишенями плазмы, такими как белки комплемента человека, включая в себя белки комплемента C5 и C5a и калликреин плазмы,*

или такие mAb или антигенсвязывающие фрагменты, сконструированные так, чтобы они содержали дополнительные сайты гликозилирования в Fab-домене (например, смотрите публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для описания производных антитела, которые гипергликозилированы в Fab-домене полноразмерного антитела). Аминокислотные последовательности тяжелых и легких цепей вышеуказанных антигенсвязывающих фрагментов представлены в таблице 4, а оптимизированные по кодонам нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи этих антигенсвязывающих фрагментов, представлены в таблице 5.

[31] Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, включает в себя нереплицирующиеся векторы рекомбинантных аденоассоциированных вирусов («rAAV»). rAAV являются особенно привлекательными векторами по ряду причин - они могут

трансдуцировать нереплицирующиеся клетки и, следовательно, могут использоваться для доставки трансгена в ткани, где деление клеток происходит на низких уровнях, таких как ЦНС; они могут быть модифицированы так, чтобы преимущественно нацеливаться на конкретный выбранный орган; и существуют сотни капсидных серотипов на выбор, чтобы получить желаемую тканевую специфичность и/или избежать нейтрализации уже существующими антителами пациента к некоторым AAV. Такие rAAV включают в себя, без ограничения, векторы на основе AAV, содержащие капсидные компоненты из одного или более из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAVrh10 или AAVrh20. Согласно предпочтительным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы на основе AAV содержат капсиды из одного или более серотипов AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAVrh10 или AAVrh20.

[32] Однако могут использоваться другие вирусные векторы, включая в себя, без ограничения, лентивирусные векторы; вирусные векторы осповакцины или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК». Экспрессия трансгена может контролироваться конститутивными или тканеспецифическими элементами контроля экспрессии.

[33] Конструкции генной терапии разработаны таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны быть экспрессированы в приблизительно равных количествах, иными словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются приблизительно в отношении 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Согласно некоторым вариантам осуществления кодирующие последовательности кодируют Fab или $F(ab')_2$ или scFv.

[34] Согласно некоторым вариантам осуществления нуклеиновые кислоты (например, полинуклеотиды) и последовательности нуклеиновых кислот, раскрытые в настоящем документе, могут быть оптимизированы по кодонам, например, с помощью любого способа оптимизации кодонов, известного специалисту в настоящей области техники (смотрите, например, обзор Quax et al., 2015, Mol Cell 59:149-161). Оптимизированные по кодонам нуклеотидные последовательности вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей терапевтических антител раскрыты в таблице 5. Каждая тяжелая и легкая цепь требует лидера для обеспечения надлежащего посттрансляционного процессинга и секреции (если не экспрессированы как scFv, в котором только N-концевая цепь требует лидерной последовательности). Применимые лидерные последовательности

для экспрессии тяжелых и легких цепей терапевтических антител в клетках человека раскрыты в настоящем документе. Иллюстративная рекомбинантная экспрессирующая конструкция показана на фиг. 1.

[35] Производство HuPTMmAb или HuPTM Fab (включая в себя HuPTM scFv) должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения заболевания, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей полноразмерный или HuPTM Fab или другой антигенсвязывающий фрагмент, такой как scFv, терапевтического mAb пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано заболевание для этого mAb, для создания у субъекта постоянного депо, которое непрерывно поставляет гликозилированный человеком сульфатированный трансгенный продукт, производимый трансдуцированными клетками субъекта. Конструкция кДНК для HuPTMmAb или HuPTM Fab или HuPTM scFv должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками человека.

[36] Фармацевтические композиции, подходящие для введения субъектам-людям, содержат суспензию рекомбинантного вектора в буфере для состава, содержащем физиологически совместимый водный буфер, поверхностно-активное вещество и необязательные вспомогательные вещества. Такой буфер для состава может содержать одно или более из полисахаридов, поверхностно-активных веществ, полимера или масла.

[37] В качестве альтернативы или дополнительного лечения при генной терапии полноразмерный или HuPTM Fab или другой его антигенсвязывающий фрагмент может быть получен в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК, и гликопротеин может вводиться пациентам. Линии клеток человека, которые можно использовать для получения такого рекомбинантного гликопротеина, включают в себя, без ограничения, клетки 293 эмбриональной почки человека (HEK293), HT-1080 фибросаркомы, HKB-11, CAP, HuH-7 и клеточные линии сетчатки, PER.C6 или RPE, чтобы назвать несколько (например, смотрите публикацию Dumont et al., 2015, Crit. Rev. Biotechnol. 36(6):1110-1122, которая полностью включена посредством ссылки для обзора линий клеток человека, которые могут быть использованы для рекомбинантного производства HuPTM Fab или HuPTM scFv, например, гликопротеина HuPTM Fab). Для обеспечения полного гликозилирования, особенно сиалилирования и сульфатирования тирозина, клеточная линия, используемая для производства, может быть усилена путем конструирования клеток-хозяев для коэкспрессии α-2,6-сиалилтрансферазы (или как α-2,3-

, так и α-2,6-сиалилтрансферазы) и/или ферментами TPST-1 и TPST-2, ответственными за тирозин-О-сульфатирование в клетках человека.

[38] Не обязательно, чтобы каждая молекула, полученная в результате генной или белковой терапии, была полностью гликозилированной и сульфатированной. Скорее, популяция произведенных гликопротеинов должна иметь достаточное гликозилирование (включая в себя 2,6-сиалилирование) и сульфатирование, чтобы продемонстрировать эффективность. Целью генной терапии по настоящему изобретению является замедление или остановка прогрессирования заболевания.

[39] Комбинированные способы лечения, включающие в себя доставку полноразмерного или HuPTM Fab или его антигенсвязывающего фрагмента пациенту, сопровождаемую введением других доступных способов лечения, охватываются способами по настоящему изобретению. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Такие дополнительные способы лечения могут включать в себя, без ограничения, совместную терапию с терапевтическим mAb.

[40] Также представлены способы изготовления вирусных векторов, в частности вирусных векторов на основе AAV. Согласно конкретным вариантам осуществления представлены способы получения рекомбинантных AAV, предусматривающие культивирование клетки-хозяина, содержащей искусственный геном, содержащий цис-экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем цис-экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий терапевтическое антитело, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые будут контролировать экспрессию трансгена в клетках человека; транс-экспрессионную кассету, в которой отсутствуют ITR AAV, причем транс-экспрессионная кассета кодирует белок rep и капсида AAV, функционально связанный с элементами управления экспрессией, которые управляют экспрессией белков rep и капсида AAV в клетке-хозяине в культуре и поставляют белки rep и cap in trans; достаточные вспомогательные функции аденовируса для репликации и упаковки искусственного генома белками капсида AAV; и восстановление рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственный геном, из культуры клеток.

5.1 КОНСТРУКЦИИ

[41] В настоящем документе представлены вирусные векторы или другие экспрессирующие ДНК конструкции, кодирующие HuPTMmAb или его антигенсвязывающий фрагмент, в частности HuGlyFab, или гипергликозилированное производное антигенсвязывающего фрагмента HuPTMmAb. Представленные в настоящем документе вирусные векторы и другие экспрессирующие ДНК конструкции предусматривают любой подходящий способ доставки трансгена в целевую клетку.

Средства доставки трансгена включают в себя вирусные векторы, липосомы, другие липидсодержащие комплексы, другие макромолекулярные комплексы, синтетически модифицированную мРНК, немодифицированную мРНК, небольшие молекулы, небиологически активные молекулы (например, частицы золота), полимеризованные молекулы (например, дендримеры), голую ДНК, плазмиды, фаги, транспозоны, космиды или эписомы. Согласно некоторым вариантам осуществления вектор представляет собой нацеленный вектор, например, вектор, нацеленный на пигментные эпителиальные клетки сетчатки, клетки ЦНС, мышечные клетки или клетки печени.

[42] Согласно некоторым аспектам в настоящем раскрытии предусмотрена нуклеиновая кислота для применения, причем нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует HuPTMmAb или HuGlyFab или другой его антигенсвязывающий фрагмент, в качестве описанного в настоящем документе трансгена, функционально связанного с промотором, выбранным для экспрессии в ткани, нацеленной на экспрессию трансгена, например, без ограничения, промотор CB7 (смотрите фиг. 1), промотор цитомегаловируса (CMV), промотор вируса саркомы Рауса (RSV), промотор GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок), промотор MBP (основной миелиновый белок), промотор MMT, промотор EF-1 альфа, промотор UB6, промотор бета-актина птиц, промотор CAG, промотор RPE65 и промотор опсина, специфические для печени промоторы, такие как промотор TBG (связывающий тироксин глобулин), промотор APOA2, промотор SERPINA1 (hAAT) или промотор mIR122, или мышечно-специфический промотор, такой как промотор десмина человека или промотор Pitx3, индуцируемые промоторы, такие как индуцируемый гипоксией промотор или индуцируемый рапамицином промотор.

[43] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе представлены рекомбинантные векторы, которые содержат одну или более нуклеиновых кислот (например, полинуклеотиды). Нуклеиновые кислоты могут содержать ДНК, РНК или комбинацию ДНК и РНК. Согласно определенным вариантам осуществления ДНК содержит одну или более последовательностей, выбранных из группы, состоящей из последовательностей промотора, последовательности представляющего интерес гена (трансгена, например, нуклеотидных последовательностей, кодирующих тяжелые и легкие цепи HuPTMmAb или HuGlyFab или другой антигенсвязывающий фрагмент), нетранслируемые области и терминирующие последовательности. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат промотор, функционально связанный с представляющим интерес геном.

[44] Согласно определенным вариантам осуществления нуклеиновые кислоты (например, полинуклеотиды) и последовательности нуклеиновых кислот, раскрытые в настоящем документе, могут быть оптимизированы по кодонам, например, с помощью любого способа оптимизации кодонов, известного специалисту в настоящей области техники (смотрите, например, обзор Quax et al., 2015, Mol Cell 59:149-161). Оптимизированные по кодонам нуклеотидные последовательности для экспрессии в клетках человека представлены в настоящем документе для тяжелой и легкой цепей HuGlyFab в таблице 5.

[45] Согласно конкретному варианту осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) один или более контрольных элементов, b) интрон β-актина птиц и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи антигенсвязывающего фрагмента к VEGF, разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/F2A, обеспечивающие экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепи. Иллюстративная конструкция показана на фиг. 1.

5.1.1 Векторы мРНК

[46] Согласно определенным вариантам осуществления в качестве альтернативы ДНК-векторам представленные в настоящем документе векторы представляют собой модифицированную мРНК, кодирующую представляющий интерес ген (например, трансген, например, HuPTMmAb или HuGlyFab или другой его антигенсвязывающий фрагмент). Синтез модифицированной и немодифицированной мРНК для доставки трансгена к пигментным эпителиальным клеткам сетчатки описан, например, в публикации Hansson et al., J. Biol. Chem., 2015, 290(9):5661-5672, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе представлена модифицированная мРНК, кодирующая HuPTMmAb или HuPTM Fab, или HuPTM scFv.

5.1.2. Вирусные векторы

[47] Вирусные векторы включают в себя векторы аденовируса, адено-ассоциированного вируса (AAV, например, AAV8, AAV9, AAVrh10), лентивируса, хелпер-зависимого аденовируса, вируса простого герпеса, поксвируса, гемагглютининового вируса Японии (HVJ), альфа-вируса, вируса коровьей оспы и ретровируса. Ретровирусные векторы включают в себя векторы на основе вируса лейкоза мыши (MLV) и вируса иммунодефицита человека (HIV). Альфа-вирусные векторы включают в себя вирус леса Семлики (SFV) и вирус Синдбис (SIN). Согласно определенным вариантам осуществления представленные

в настоящем документе вирусные векторы представляют собой рекомбинантные вирусные векторы. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы изменены таким образом, что они характеризуются дефицитом по репликации у людей. Согласно некоторым вариантам осуществления вирусные векторы представляют собой гибридные векторы, например, вектор AAV, помещенный в «беспомощный» аденовирусный вектор. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе представлены вирусные векторы, содержащие вирусный капсид из первого вируса и белки вирусной оболочки из второго вируса. Согласно конкретным вариантам осуществления второй вирус представляет собой вирус везикулярного стоматита (VSV). Согласно более конкретным вариантам осуществления белок оболочки представляет собой белок VSV-G.

[48] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы представляют собой вирусные векторы на основе HIV. Согласно некоторым вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы на основе HIV содержат по меньшей мере два полинуклеотида, причем гены gag и pol получены из генома HIV, а ген env - из другого вируса.

[49] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы представляют собой вирусные векторы на основе вируса простого герпеса. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы на основе вируса простого герпеса модифицированы таким образом, что они не содержат один или более немедленных ранних (IE) генов, что делает их нецитотоксичными.

[50] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы представляют собой вирусные векторы на основе MLV. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы на основе MLV содержат до 8 т.п.н. гетерологичной ДНК вместо вирусных генов.

[51] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы представляют собой вирусные векторы на основе лентивируса. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе лентивирусные векторы получены из человеческих лентивирусов. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе лентивирусные векторы получены из отличных от человеческих лентивирусов. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе лентивирусные векторы упакованы в лентивирусный капсид. Согласно

некоторым вариантам осуществления представленные в настоящем документе лентивирусные векторы содержат один или более из следующих элементов: длинные концевые повторы, сайт связывания праймера, полипуринный тракт, сайты att и сайт инкапсидирования.

[52] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы представляют собой вирусные векторы на основе альфа-вируса. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе альфавирусные векторы представляют собой рекомбинантные, дефектные по репликации альфа-вирусы. Согласно определенным вариантам осуществления репликоны альфа-вируса в представленных в настоящем документе альфавирусных векторах нацелены на конкретные типы клеток путем отображения функционального гетерологичного лиганда на их поверхности вириона.

[53] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы представляют собой вирусные векторы на основе AAV. Согласно некоторым вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы на основе AAV не кодируют ген rep AAV (необходимый для репликации) и/или ген cap AAV (необходимый для синтеза белков капсида) (белки rep и cap могут быть предоставлены упаковывающими клетками in *trans*). Было выявлено несколько серотипов AAV. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы на основе AAV содержат компоненты одного или более серотипов AAV. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы на основе AAV содержат капсидные компоненты из одного или более из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 или AAVrh10. Согласно предпочтительным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы на основе AAV содержат компоненты из одного или более серотипов AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 или AAVrh10. Представлены вирусные векторы, в которых капсидный белок представляет собой вариант капсидного белка AAV8 (SEQ ID NO: 78), капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 79) или капсидного белка AAVrh10 (SEQ ID NO: 80), более конкретно по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,9% идентичен аминокислотной последовательности капсидного белка AAV8 (SEQ ID NO: 78), капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 79) или капсидного белка AAVrh10 (SEQ ID NO: 80), сохраняя при этом биологическую функцию нативного капсида. Согласно определенным вариантам осуществления кодированный капсид AAV характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 78, 79 или 80 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами и

сохранением биологической функции капсида AAV8 AAV9 или AAVrh10. На фиг. 12 представлено сравнительное выравнивание аминокислотных последовательностей капсидных белков различных серотипов AAV с потенциальными аминокислотами, которые могут быть заменены в определенных положениях в выровненных последовательностях, на основе сравнения в ряду, помеченном как SUBS. Соответственно, согласно конкретным вариантам осуществления вектор AAV содержит вариант капсида AAV8, AAV9 или AAVrh10, который содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотных замен, которые не присутствуют в этом положении в нативной капсидной последовательности AAV, как указано в строке SUBS фиг. 12. Последовательность для AAVrh10 приведена в таблице 4.

[54] Согласно некоторым вариантам осуществления AAV, который используется в описанных в настоящем документе композициях и способах, представляет собой Anc80 или Anc80L65, как описано в публикации Zinn et al., 2015, Cell Rep. 12(6): 1056-1068, которая полностью включена посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам осуществления AAV, который используется в описанных в настоящем документе способах, содержит одну из следующих аминокислотных вставок: LGETTRP (SEQ ID NO: 162) или LALGETTRP (SEQ ID NO: 163), как описано в патентах США № 9193956; 9458517 и 9587282 и публикации патентной заявки США № 2016/0376323, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Согласно определенным вариантам осуществления AAV, который используется в описанных в настоящем документе способах, представляет собой AAV.7m8 (включая в себя варианты), как описано в патентах США № 9193956; 9458517 и 9587282, патентной заявке США № 2016/0376323 и международной публикации WO 2018/075798, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Согласно определенным вариантам осуществления AAV, который используется в описанных в настоящем документе способах, представляет собой любой AAV, раскрытый в патенте США № 9585971, такой как AAV-PHP.B. Согласно определенным вариантам осуществления AAV, используемый в описанных в настоящем документе композициях и способах, представляет собой вектор AAV2/Rec2 или AAV2/Rec3, который содержит гибридные последовательности капсида, полученные из капсидов AAV8 и капсидов серотипов cy5, rh20 или rh39, как описано в публикации Charbel Issa et al., 2013, PLoS One 8(4): e60361, которая включена в настоящий документ посредством ссылки для этих векторов. Согласно определенным вариантам осуществления AAV, который используется в описанных в настоящем документе способах, представляет собой AAV, раскрытый в любом из следующих патентов и патентных заявок, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки: патенты США

№ 7906111; 8524446; 8999678; 8628966; 8927514; 8734809; US 9284357; 9409953; 9169299; 9193956; 9458517 и 9587282, публикации патентных заявок США № 2015/0374803; 2015/0126588; 2017/0067908; 2013/0224836; 2016/0215024; 2017/0051257 и международные заявки на патент № PCT/US2015/034799; PCT/EP2015/053335.

[55] В некоторых из описанных в настоящем документе способов используются вирусные векторы на основе AAV8, AAV9 и AAVrh10. Нуклеотидные последовательности вирусных векторов на основе AAV и способы получения рекомбинантных капсидов AAV и AAV описаны, например, в патенте США № 7282992 B2, патенте США № 7790449 B2, патенте США № 8318480 B2, патенте США № 8982322 B2 и международной заявке на патент № PCT/EP2014/076466, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены вирусные векторы на основе AAV (например, AAV8, AAV9 или AAVrh10), кодирующие трансген (например, HuPTM Fab). Аминокислотные последовательности капсидов AAV, включая в себя AAV8, AAV9 и AAVrh10, представлены на фиг. 12 и в таблице 4.

[56] Согласно определенным вариантам осуществления выше можно использовать одноцепочечный AAV (ssAAV). Согласно некоторым вариантам осуществления может использоваться самокомплементарный вектор, например, scAAV (смотрите, например, публикации Wu, 2007, Human Gene Therapy, 18(2):171-82, McCarty et al, 2001, Gene Therapy, Vol 8, Number 16, Pages 1248-1254 и патенты США № 6596535; 7125717 и 7456683, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки).

[57] Согласно определенным вариантам осуществления используемые в описанных в настоящем документе способах вирусные векторы представляют собой вирусные векторы на основе аденовируса. Рекомбинантный аденовирусный вектор может быть использован для переноса в трансген, кодирующий HuPTMmAb или HuGlyFab или антигенсвязывающий фрагмент. Рекомбинантный аденовирус может представлять собой вектор первого поколения с делецией E1, с делецией E3 или без нее и с кассетой экспрессии, вставленной в любую удаленную область. Рекомбинантный аденовирус может представлять собой вектор второго поколения, который содержит полные или частичные делеции областей E2 и E4. Хелпер-зависимый аденовирус сохраняет только инвертированные концевые повторы аденовируса и сигнал упаковки (phi). Трансген вставляется между сигналом упаковки и 3'ITR, с последовательностями или без них, чтобы поддерживать геном близким к размеру дикого типа приблизительно 36 т.п.н. Иллюстративный протокол для получения аденовирусных векторов может быть найден в публикации Alba et al., 2005, “Gutless adenovirus: last generation adenovirus for gene therapy,”

Gene Therapy 12:S18-S27, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

[58] Согласно некоторым вариантам осуществления используемые в описанных в настоящем документе способах вирусные векторы представляют собой вирусные векторы на основе лентивируса. Рекомбинантный лентивирусный вектор может быть использован для переноса в трансген, кодирующий антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb. Для создания конструкции используют четыре плазмиды: содержащую последовательность Gag/pol плазмиду, содержащую последовательность Rev плазмиду, содержащую белок оболочки плазмиду (т.е. VSV-G) и плазмиду Cis с элементами упаковки и геном антигенсвязывающего фрагмента анти-VEGF.

[59] Для получения лентивирусного вектора четыре плазмиды котрансфицируют в клетки (т.е. клетки на основе HEK293), в результате чего полиэтиленимин или фосфат кальция могут быть использованы в качестве средств для трансфекции, среди прочего. Затем лентивирус собирают в супернатанте (лентивирусы должны выделяться из клеток, чтобы быть активными, поэтому не нужно/не следует собирать клетки). Супернатант фильтруют (0,45 мкм) и затем добавляют хлорид магния и бензоназу. Дальнейшие последующие процессы могут широко варьироваться, при этом использование TFF и колоночной хроматографии является наиболее совместимым с GMP. Другие используют ультрацентрифугирование с колоночной хроматографией или без нее. Иллюстративные протоколы для производства лентивирусных векторов можно найти в Lesch et al., 2011, “Production and purification of lentiviral vector generated in 293T suspension cells with baculoviral vectors,” Gene Therapy 18:531-538 и Ausubel et al., 2012, “Production of CGMP-Grade Lentiviral Vectors,” Bioprocess Int. 10(2):32-43, обе из которых полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

[60] Согласно конкретному варианту осуществления вектор для использования в описанных в настоящем документе способах представляет собой вектор, который кодирует антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb, такой как HuGlyFab, так что при введении вектора в соответствующую клетку гликозилированный и/или сульфатированный по тирозину вариант антигенсвязывающего фрагмента HuPTM mAb или HuGlyFab экспрессируется клеткой.

5.1.3. Промоторы и модификаторы экспрессии генов

[61] Согласно некоторым вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы содержат компоненты, которые модулируют доставку гена или экспрессию гена (например, «элементы контроля экспрессии»). Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы содержат

компоненты, которые модулируют экспрессию генов. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы содержат компоненты, которые влияют на связывание или нацеливание на клетки. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы содержат компоненты, которые влияют на локализацию полинуклеотида (например, трансгена) в клетке после захвата. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы содержат компоненты, которые можно использовать в качестве обнаруживаемых или селектируемых маркеров, например, для обнаружения или отбора клеток, которые захватили полинуклеотид.

[62] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат один или более промоторов, которые контролируют экспрессию трансгена. Согласно определенным вариантам осуществления промотор представляет собой конститутивный промотор. Согласно определенным вариантам осуществления промотор представляет собой промотор CB7 (смотрите публикацию Dinculescu et al., 2005, Hum Gene Ther 16: 649-663, полностью включенную в настоящий документ посредством ссылки). Согласно некоторым вариантам осуществления промотор CB7 включает в себя другие элементы контроля экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого вектором. Согласно определенным вариантам осуществления другие элементы контроля экспрессии включают в себя интрон β-актина птиц и/или сигнал polA β-глобина кролика. Согласно определенным вариантам осуществления промотор содержит TATA-бокс. Согласно определенным вариантам осуществления промотор содержит один или более элементов. Согласно определенным вариантам осуществления один или более элементов промотора могут быть инвертированы или перемещены относительно друг друга. Согласно определенным вариантам осуществления элементы промотора располагаются так, чтобы функционировать совместно. Согласно определенным вариантам осуществления элементы промотора располагаются так, чтобы функционировать независимо. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат один или более промоторов, выбранных из группы, состоящей из промотора немедленного раннего гена CMV человека, раннего промотора SV40, длинного концевого повтора вируса саркомы Рауса (RS) и промотора инсулина крысы. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы содержат один или более промоторов с длинным концевым повтором (LTR), выбранных из группы, состоящей из LTR AAV, MLV, MMTV, SV40, RSV, HIV-1 и HIV-2. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы содержат один

или более тканеспецифических промоторов (например, специфический для эпителиальных клеток сетчатки промотор, специфический для ЦНС промотор, специфический для печени или специфический для мышц промотор). Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат промотор RPE65 или опсиновый промотор (специфический для клеток сетчатки/ЦНС промотор). Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат специфический для клеток печени промотор, такой как промотор TBG (тироксинсвязывающий глобулин), промотор APOA2, промотор SERPINA1 (hAAT) или промотор MIR122. Согласно определенным вариантам осуществления представленный в настоящем документе вирусный вектор содержит специфический для мышц промотор, такой как человеческий промотор десмина (Jonuschies et al., 2014, Curr. Gene Ther. 14:276-288) или промотор Pitx3 (Coulon et al., 2007, JBC 282:33192). Согласно другим вариантам осуществления вирусный вектор содержит промотор VMD2.

[63] Согласно определенным вариантам осуществления промотор представляет собой индуцируемый промотор. Согласно определенным вариантам осуществления промотор представляет собой индуцируемый гипоксией промотор. Согласно определенным вариантам осуществления промотор содержит сайт связывания индуцируемого гипоксией фактора (HIF). Согласно определенным вариантам осуществления промотор содержит сайт связывания HIF-1α. Согласно определенным вариантам осуществления промотор содержит сайт связывания HIF-2α. Согласно определенным вариантам осуществления сайт связывания HIF содержит мотив RCGTG. Подробности относительно местоположения и последовательности сайтов связывания HIF смотрите, например, в публикации Schödel, et al., Blood, 2011, 117(23):e207-e217, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Согласно определенным вариантам осуществления промотор содержит сайт связывания для индуцируемого гипоксией фактора транскрипции, отличного от фактора транскрипции HIF. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат один или более сайтов IRES, которые преимущественно транслируются при гипоксии. Относительно идей, касающихся индуцируемой гипоксией экспрессии генов и факторов, вовлеченных в нее, смотрите, например, публикацию Kenneth and Rocha, Biochem J., 2008, 414:19-29, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Согласно конкретным вариантам осуществления индуцируемый гипоксией промотор представляет собой человеческий промотор N-WASP, смотрите, например, публикацию Salvi, 2017, Biochemistry and Biophysics Reports 9: 13-21

(включенную посредством ссылки для идеи промотора N-WASP) или представляет собой индуцируемый гипоксией промотор Epo человека, смотрите публикацию Tsuchiya et al., 1993, J. Biochem. 113:395-400 (включена посредством ссылки для раскрытия индуцируемого гипоксией промотора Epo). Согласно другим вариантам осуществления промотор представляет собой индуцируемый лекарственным средством промотор, например, промотор, который индуцируется введением рапамицина или его аналогов. Смотрите, например, раскрытие индуцируемых рапамицином промоторов в публикациях PCT WO94/18317, WO 96/20951, WO 96/41865, WO 99/10508, WO 99/10510, WO 99/36553 и WO 99/41258 и US 7067526, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия индуцируемых лекарственным средством промоторов.

[64] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат один или более регуляторных элементов, отличных от промотора. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат энхансер. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат репрессор. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат интрон или химерный интрон. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат последовательность полиаденилирования.

5.1.4 Сигнальные пептиды

[65] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе векторы содержат компоненты, которые модулируют доставку белка. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат один или более сигнальных пептидов. Сигнальные пептиды могут также упоминаться в настоящем документе как «лидерные последовательности» или «лидерные пептиды». Согласно определенным вариантам осуществления сигнальные пептиды позволяют трансгенному продукту достигать надлежащей упаковки (например, гликозилирования) в клетке. Согласно определенным вариантам осуществления сигнальные пептиды позволяют трансгенному продукту достигать правильной локализации в клетке. Согласно определенным вариантам осуществления сигнальные пептиды позволяют трансгенному продукту достигать секреции из клетки.

[66] Существует два основных подхода к выбору сигнальной последовательности для производства белка в контексте генной терапии или в культуре клеток. Один из подходов заключается в использовании сигнального пептида из белков, гомологичных

экспрессируемому белку. Например, сигнальный пептид человеческого антитела может быть использован для экспрессии IgG в CHO или других клетках. Другой подход заключается в идентификации сигнальных пептидов, оптимизированных для конкретных клеток-хозяев, используемых для экспрессии. Сигнальные пептиды могут быть взаимозаменяемыми между разными белками или даже между белками разных организмов, но обычно для экспрессии белка используются сигнальные последовательности наиболее распространенных секретируемых белков этого типа клеток. Например, было обнаружено, что сигнальный пептид человеческого альбумина, наиболее распространенный белок в плазме, значительно увеличивает выход производства белка в клетках CHO. Однако определенные сигнальные пептиды могут сохранять функцию и проявлять активность после отщепления от экспрессированного белка в качестве «постнацеливающих функций». Таким образом, согласно конкретным вариантам осуществления сигнальный пептид выбран из сигнальных пептидов наиболее распространенных белков, секретируемых клетками, используемыми для экспрессии, чтобы избежать постнацеливающих функций. Согласно предпочтительному варианту осуществления сигнальная последовательность слита с последовательностями как тяжелой, так и легкой цепи. Предпочтительная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) (смотрите фиг. 2-9). Альтернативно, сигнальные последовательности, которые подходят для экспрессии HuPTM mAb или Fab в глазу (включая в себя ЦНС), мышцах или печени, представлены в таблицах 1, 2 и 3, соответственно, ниже.

Таблица 1. Сигнальные пептиды для экспрессии в ткани глаза/ЦНС

Источник сигнального пептида	SEQ ID NO:	Последовательность
Сигнальный пептид VEGF-A	164	MNFLLSWVHWSLALLLYLHHAKWSQA
Сигнальный пептид фибулина-1	165	MERAAPSRRVPLPLLLLGGLALLAAGVDA
Сигнальный пептид витронектина	166	MAPLRPLLILALLAWVALA
Сигнальный пептид фактора H комплемента	167	MRLLAKIICLMLWAICVA
Сигнальный пептид оптицина	168	MRLLAFLSLLALVLQETGT
Сигнальный пептид альбумина	169	MKWVTFISLLFLFSSAYS
Сигнальный пептид химотрипсиногена	170	MAFLWLLSCWALLGTTFG
Сигнальный пептид интерлейкина-2	171	MYRMQLLSCIALILALVTNS
Сигнальный пептид трипсиногена-2	172	MNLLLILTFVAAAVA

Таблица 2. Сигнальный пептид для экспрессии в мышечных клетках.

Источник сигнального пептида	SEQ ID NO:	Последовательность
SPARC человека	173	MRAWIFFLLCLAGRALA
Цепь альфа-1(I) коллагена человека	174	MFSFVDLRLLLLLAATALLTHG
Лактотрансферрин человека	175	MKLVFLVLLFLGALGLCLA
Комплемент C3 человека	176	MGPTSGPSLLLLLLTHLPLALG
Люмикан человека	177	MSLSAFTLFLALIGGTSG
Изоформа 1 гельсолина человека	178	MAPHRPAPALLCALSLALCALSLPVRA
Прокатепсин H человека	179	MWATLPLLCAGAWLLGVPVCGA
SERPINF1 человека	180	MQALVLLLCIGALLGHSSC
SERPINE1 человека	181	MQMSPALTCLVLGLALVFGEGSA
Катепсин D человека	182	MQPSSLLPLALCLLAAPASA
TIMP1 человека	183	MAPFEPLASGILLLLWLIAPSRA
Фибронектин человека	184	MLRGPGPGLLLLAVQCLGTAVPSTGASKSKR
Субкомпонент комплемента C1s человека	185	MWCIVLFSLLAWVYA
Катепсин L1 человека	186	MNPTLILAAFCLGIASA
Катепсин B человека	187	MWQLWASLCCLLVLANA
Богатый пролином кислый фосфопротеин 1/2 слюны человека	188	MLLILLSVALLAFSSA
Связанный с фоллистатином белок 1 человека	189	MWKRWLALALALVAVAWVRA

Таблица 3. Сигнальные пептиды для экспрессии в клетках печени.

Сигнальный пептид	SEQ ID NO:	Последовательность
Альбумин сыворотки человека	169	MKWVTFISLLFLFSSAYS
Антитрипсин α-1 (SERPINA1) человека	190	MPSSVSWGILLLAGLCCLVPVSLA
Аполипопротеин А-1 человека	191	MKAAVLTLAVLFLTGSQA
Аполипопротеин А-2 человека	192	MKLLAATVLLLTICSLEG
Аполипопротеин В-100 человека	193	MDPPRPALLALLALPALLLLLLAGARA
Фактор коагуляции IX человека	194	MQRVNMIMAESPGLITICLLGYLLSAEC
Комплемент С2 человека	195	MGPLMVLFCLLFLYPGLADS
Связанный с фактором комплемента Н белок 2 (CFHR2) человека	196	MWLLVSVILISRISSVGG
Связанный с фактором комплемента Н белок 5 (CFHR5) человека	197	MLLLFSVILISWVSTVGG
α-цепь фибриногена (FGA) человека	198	MFSMRIVCLVLSVVGTAWT
β-цепь фибриногена (FGB) человека	199	MKRMVSWSFHKLKTMKHLLLLLLCVFLVKS
γ-цепь фибриногена (FGG) человека	200	MSWSLHPRNLILYFYALLFLSSTCVA
α-2-HS-гликопротеин (AHSG) человека	201	MKSLVLLLCLAQLWGCHS
Гемопексин (HPX) человека	202	MARVLGAPVALGLWSLCWSLAIA
Кининоген-1 человека	203	MKLITILFLCSRLLLSLT
Связывающий маннозу белок С (MBL2) человека	204	MSLFPSLPLLLLSMVAASYS
Плазминоген (PLMN) человека	205	MEHKEVVLLLLLFLKSGQG
Протромбин человека (фактор коагуляции II)	206	MAHVRGLQLPGCLALAALCSLVHS
Секретируемый фосфопротеин 24 человека	207	MISRMEKMTMMMKILIMFALGMNYWSCSG
Антитромбин-III (SERPINC1) человека	208	MYSNVIGTVTSGKRKVYLLSLLLIGFWDCVTC
Серотрансферрин (TF) человека	209	MRLAVGALLVCAVLGLCLA

5.1.5 Полицистронные мРНК - линкеры IRES и F2A и конструкции scFv

[67] *Участки внутренней посадки рибосомы.* Одна конструкция может быть сконструирована так, чтобы кодировать как тяжелые, так и легкие цепи, разделенные расщепляемым линкером или IRES, так чтобы отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепи экспрессировались трансдуцированными клетками. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы предоставляют полицистронные (например, бицистронные) мРНК. Например, вирусная конструкция может кодировать тяжелые и легкие цепи, разделенные элементами участков внутренней посадки рибосомы (IRES) (примеры использования элементов IRES для создания бицистронных векторов смотрите, например, в публикации Gurtu et al., 1996, Biochem. Biophys. Res. Comm. 229(1):295-8, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Элементы IRES обходят модель сканирования рибосом и начинают трансляцию на внутренних участках. Использование IRES в AAV описано, например, в публикации Furling et al., 2001, Gene Ther 8(11): 854-73, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам осуществления бицистронная мРНК содержится в вирусном векторе с ограничением размера полинуклеотида(ов) в нем. Согласно определенным вариантам осуществления бицистронная мРНК содержится внутри вектора на основе вируса AAV (например, вектора на основе AAV8, на основе AAV9 или AAVrh10).

[68] *Линкеры фурин-F2A.* Согласно другим вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы кодируют тяжелую и легкую цепи, разделенные расщепляемым линкером, таким как саморасщепляющиеся линкеры фурин/F2A (F/F2A) (публикации Fang et al., 2005, Nature Biotechnology 23: 584-590 и Fang, 2007, Mol Ther 15: 1153-9, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Например, линкер фурин-F2A может быть включен в экспрессионную кассету для разделения кодирующих последовательностей тяжелой и легкой цепей, в результате чего получается конструкция со структурой:

Лидер - Тяжелая цепь - Сайт фурина - Сайт F2A - Лидер - Легкая цепь - ПолиА.

Сайт F2A с аминокислотной последовательностью LLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 210) является самопроцессирующим, что приводит к «расщеплению» между конечными аминокислотными остатками G и P. Дополнительные линкеры, которые можно использовать, включают в себя, без ограничения:

T2A:(GSG) E G R G S L L T C G D V E E N P **G P** (SEQ ID NO: 211);

P2A: (GSG) A T N F S L L K Q A G D V E E N P **G P** (SEQ ID NO: 212);

E2A: (GSG) Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P **G P** (SEQ ID NO: 213);

F2A: (GSG) V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P **G P** (SEQ ID NO: 214).

[69] Пептидная связь пропускается, когда рибосома сталкивается с последовательностью F2A в открытой рамке считывания, что приводит к прекращению трансляции или продолжению трансляции последующей последовательности (легкой цепи). Эта самопроцессирующая последовательность приводит к появлению ряда дополнительных аминокислот на конце С-конца тяжелой цепи. Однако такие дополнительные аминокислоты затем расщепляются с помощью фурина клетки-хозяина в сайтах фурина, расположенных непосредственно перед сайтом F2A и после последовательности тяжелой цепи, и дополнительно расщепляются карбоксипептидазами. Полученная тяжелая цепь может содержать одну, две, три или более дополнительных аминокислот, включенных в С-конец, или может не содержать таких дополнительных аминокислот в зависимости от последовательности используемого линкера фурина и карбоксипептидазы, которая расщепляет линкер in vivo (смотрите, например, Fang et al., 17 April 2005, Nature Biotechnol. Advance Online Publication; Fang et al., 2007, Molecular Therapy 15(6):1153-1159; Luke, 2012, Innovations in Biotechnology, Ch. 8, 161-186). Фуриновые линкеры, которые могут быть использованы, содержат серию из четырех основных аминокислот, например, RKRR (SEQ ID NO: 215), RRRR (SEQ ID NO: 216), RRKR (SEQ ID NO: 217) или RKKR (SEQ ID № 218). Как только этот линкер расщепляется карбоксипептидазой, могут остаться дополнительные аминокислоты, так что на С-конце тяжелой цепи могут остаться дополнительные ноль, одна, две, три или четыре аминокислоты, например, R, RR, RK, RKR, RRR, RRK, RKK, RKRR (SEQ ID NO: 215), RRRR (SEQ ID NO: 216), RRKR (SEQ ID NO: 217) или RKKR (SEQ ID NO: 218). Согласно определенным вариантам осуществления один линкер расщепляется карбоксипептидазой, дополнительные аминокислоты не остаются. Согласно определенным вариантам осуществления от 0,5% до 1%, от 1% до 2%, 5%, 10%, 15% или 20% антитела, например, антигенсвязывающего фрагмента, популяции, производимой конструкциями для применения в описанных способах в настоящем документе одна, две, три или четыре аминокислоты остаются на С-конце тяжелой цепи после расщепления. Согласно некоторым вариантам осуществления фуриновый линкер характеризуется последовательностью RXK/RR, так что дополнительные аминокислоты на С-конце тяжелой цепи представляют собой R, RX, RXK, RXR, RXKR или RXRR, где X представляет собой любую аминокислоту, например, аланин (A). Согласно определенным вариантам осуществления никакие дополнительные аминокислоты не могут оставаться на С-конце тяжелой цепи.

[70] *Гибкий пептидный линкер.* Согласно некоторым вариантам осуществления может быть сконструирована одна конструкция для кодирования как тяжелой, так и легкой цепей (предпочтительно вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей), разделенных

гибким пептидным линкером, таким как кодирующие scFv. Гибкий пептидный линкер может состоять из гибких остатков, таких как глицин и серин, так что смежные домены тяжелой цепи и легкой цепи могут свободно перемещаться относительно друг друга. Конструкция может быть устроена так, что вариабельный домен тяжелой цепи находится на N-конце scFv, за которым следует линкер, а затем вариабельный домен легкой цепи. Альтернативно, конструкция может быть устроена так, что вариабельный домен легкой цепи находится на N-конце scFv, за которым следует линкер, а затем вариабельный домен тяжелой цепи. То есть компоненты могут быть расположены в виде NH_2-V_L-линкер-V_H-COOH или NH_2-V_H-линкер-V_L-COOH.

[71] Согласно определенным вариантам осуществления описанная в настоящем документе экспрессионная кассета содержится в вирусном векторе с ограничением размера полинуклеотида(ов) в нем. Согласно определенным вариантам осуществления экспрессионная кассета содержится в векторе на основе вируса AAV. Из-за ограничений по размеру определенных векторов вектор может содержать или не содержать кодирующие последовательности для полной тяжелой и легкой цепей терапевтического антитела, но может содержать кодирующие последовательности тяжелой и легкой цепей антигенсвязывающих фрагментов, таких как тяжелые и легкие цепи фрагмента Fab или $F(ab')_2$ или scFv. В частности, описанные в настоящем документе векторы AAV могут вмещать трансген приблизительно в 4,7 т.н. Для конструкций, таких как на фиг. 1, которая содержит промотор CB7, интрон β-актина птиц, сигнал полиА β-глобина кролика и ITR, кодируемое терапевтическое антитело может содержать приблизительно 752 аминокислоты. Замена меньших элементов экспрессии позволила бы экспрессию более крупных белковых продуктов, таких как полноразмерные терапевтические антитела.

5.1.6 Нетранслируемые области

[72] Согласно некоторым вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат одну или более нетранслируемых областей (UTR), например 3' и/или 5' UTR. Согласно определенным вариантам осуществления UTR оптимизированы для желаемого уровня экспрессии белка. Согласно определенным вариантам осуществления UTR оптимизированы для периода полужизни мРНК трансгена. Согласно определенным вариантам осуществления UTR оптимизированы для стабильности мРНК трансгена. Согласно определенным вариантам осуществления UTR оптимизированы для вторичной структуры мРНК трансгена.

5.1.7 Инвертированные концевые повторы

[73] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат одну или более последовательностей с

инвертированными концевыми повторами (ITR). Последовательности ITR могут быть использованы для упаковки рекомбинантной генной кассеты экспрессии в вирион вирусного вектора. Согласно определенным вариантам осуществления ITR происходит от AAV, например, AAV8 или AAV2 (смотрите, например, Yan et al., 2005, J. Virol., 79(1):364-379; патент США № 7282199 B2, патент США № 7790449 B2, патент США № 8318480 B2, патент США № 8962332 B2 и Международную заявку на патент № PCT/EP2014/076466, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

[74] Согласно определенным вариантам осуществления могут использоваться модифицированные ITR, используемые для получения самокомплементарного вектора, например scAAV (смотрите, например, публикации Wu, 2007, Human Gene Therapy, 18(2):171-82, McCarty et al, 2001, Gene Therapy, Vol 8, Number 16, Pages 1248-1254 и патенты США № 6596535; 7125717 и 7456683, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки).

5.1.8. Трансгены

[75] Трансгены кодируют HuPTM mAb в виде полноразмерного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предпочтительно фрагмента Fab (HuGlyFab) или $F(ab')_2$ или scFv на основе раскрытого в настоящем документе терапевтического антитела. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент, в частности HuGlyFab, сконструированы так, чтобы содержать дополнительные сайты гликозилирования в Fab-домене (например, смотрите публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для описания сайтов гипергликозилирования на Fab-домене). На фиг. 11 представлены выравнивания тяжелых и легких цепей Fab терапевтических антител, раскрытых в настоящем документе, и выделены зеленым цветом остатки, которые могут быть заменены аспарагином или, в некоторых случаях, серином, что приводит к гипергликозилированию.

[76] Согласно определенным вариантам осуществления трансгены кодируют либо полноразмерное антитело, либо его антигенсвязывающий фрагмент с кодирующей последовательностью тяжелой и легкой цепей. При использовании полноразмерного антитела можно использовать конструкцию, кодирующую модифицированное mAb. Например, C-концевые лизины (-K), консервативные в генах тяжелых цепей всех подклассов IgG человека, как правило, отсутствуют в антителах, циркулирующих в сыворотке крови – C-концевые лизины отщепляются в кровотоке, что приводит к гетерогенной популяции циркулирующих IgG (van den Bremer et al., 2015, mAbs 7:672-680). В векторных конструкциях для полноразмерных mAb ДНК, кодирующая C-концевой лизин

(-K) или глицин-лизин (-GK) Fc-конца, может быть удалена для получения более гомогенного продукта антитела *in situ*. (Смотрите публикацию Hu et al., 2017 Biotechnol. Prog. 33: 786-794, которая полностью включена посредством ссылки).

[77] Альтернативно, преимущественно используются антигенсвязывающие фрагменты. На фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5D, 6, 7A, 7B, 8A-8H и 9A-9B предусмотрены аминокислотные последовательности тяжелых и легких цепей фрагментов Fab и scFv терапевтических антител (смотрите также таблицу 4, в которой приведены аминокислотные последовательности тяжелых и легких цепей терапевтических антител). Трансген может содержать нуклеотидные последовательности, кодирующие последовательности тяжелой и легкой цепей, с использованием нуклеотидных последовательностей, которые кодируют Fab-часть тяжелой цепи плюс часть константного домена тяжелой цепи для соответствующего изотипа, как описано дополнительно в настоящем документе, и легкую цепь. Нуклеотидные последовательности, оптимизированные по кодонам для экспрессии в клетках человека, кодирующие части Fab-фрагментов тяжелых и легких цепей раскрытых в настоящем документе терапевтических антител, представлены в таблице 5. Трансген может кодировать Fab-фрагмент с использованием нуклеотидных последовательностей, кодирующих последовательности, представленные на фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5C, 6, 7A, 7B, 8A-8H и 9A-9B, но не включая в себя часть шарнирной области на тяжелой цепи, которая образует межцепочечные дисульфидные связи (т.е. часть, содержащая последовательность CPPCPA (SEQ ID NO: 219)). Последовательности вариабельного домена тяжелой цепи, которые не содержат последовательность CPPCP (SEQ ID NO: 220) шарнирной области на C-конце, не будут образовывать внутрицепочечные дисульфидные связи и, таким образом, будут образовывать фрагменты Fab с соответствующими последовательностями вариабельного домена легкой цепи, тогда как эти последовательности вариабельного домена тяжелой цепи с частью шарнирной области на C-конце, содержащей последовательность CPPCP (SEQ ID NO: 220), будут образовывать внутрицепочечные дисульфидные связи и, таким образом, будут образовывать фрагменты Fab2. Например, согласно некоторым вариантам осуществления трансген может кодировать scFv, содержащий вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, соединенный гибким линкером между ними (где вариабельный домен тяжелой цепи может находиться либо на N-терминальном конце, либо C-терминальном конце scFv), например, как показано для бролуцизумаба на фиг. 8D и E06 на фиг. 5D. Альтернативно, согласно другим вариантам осуществления трансген может кодировать фрагменты $F(ab')_2$, содержащие нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь, и последовательность тяжелой цепи, которая включает в себя по меньшей

мере последовательность CPPCA (SEQ ID NO: 221) шарнирной области, как показано на фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5C, 6, 7A, 7B, 8A-8C, 8E-8H и 9A-9B, которые изображают различные области шарнирной области, которые могут быть включены в C-конец последовательности тяжелой цепи. Существующие ранее антитела к шарниру (AHA) могут вызывать иммуногенность и снижать эффективность. Таким образом, согласно определенным вариантам осуществления для изотипа IgG1 C-конец заканчивается D221 или заканчивается мутацией T225L или L242, что может уменьшить связывание с AHA. (Смотрите, например, Brezski, 2008, J Immunol 181: 3183-92 и Kim, 2016, 8: 1536-1547). Для IgG2 риск AHA ниже, поскольку шарнирная область IgG2 не столь восприимчива к ферментативному расщеплению, необходимому для получения эндогенной AHA. (Смотрите, например, Brezski, 2011, MAbs 3: 558-567).

[78] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат следующие элементы в следующем порядке: a) последовательность конститутивного или индуцируемого (например, индуцируемого гипоксией или индуцируемого рифамицином) промотора и b) последовательность, кодирующая трансген (например, HuGlyFab). Согласно определенным вариантам осуществления кодирующая трансген последовательность содержит несколько ORF, разделенных элементами IRES. Согласно определенным вариантам осуществления ORF кодируют домены тяжелой и легкой цепей HuGlyFab. Согласно определенным вариантам осуществления последовательность, кодирующая трансген, содержит множество субъединиц в одной ORF, разделенных последовательностями F/F2A. Согласно определенным вариантам осуществления содержащая трансген последовательность кодирует домены тяжелой и легкой цепей HuGlyFab, разделенные последовательностью F/F2A. Согласно определенным вариантам осуществления содержащая трансген последовательность кодирует вариабельные домены тяжелой и легкой цепей HuGlyFab, разделенные гибким пептидным линкером. Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат следующие элементы в следующем порядке: a) последовательность конститутивного или индуцируемого промотора и b) последовательность, кодирующая трансген (например, HuGlyFab), причем трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, легкую цепь и Fab-часть тяжелой цепи, разделенные элементом IRES. Согласно некоторым вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат следующие элементы в следующем порядке: a) последовательность конститутивного или индуцируемого гипоксией промотора и b) последовательность, кодирующая трансген, содержащий сигнальный пептид,

последовательность легкой цепи и тяжелой цепи, разделенные расщепляемой последовательностью F/F2A или гибким пептидным линкером.

[79] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат следующие элементы в следующем порядке: a) первая последовательность ITR, b) первая линкерная последовательность, c) последовательность конститутивного или индуцируемого промотора, d) вторая линкерная последовательность, e) интронная последовательность, f) третья линкерная последовательность, g) первая последовательность UTR, h) последовательность, кодирующая трансген (например, HuGlyFab), i) вторая последовательность UTR, j) четвертая линкерная последовательность, k) последовательность поли A, l) пятая линкерная последовательность и m) вторая последовательность ITR.

[80] Согласно определенным вариантам осуществления представленные в настоящем документе вирусные векторы содержат следующие элементы в следующем порядке: a) первая последовательность ITR, b) первая линкерная последовательность, c) последовательность конститутивного или индуцируемого промотора, d) вторая линкерная последовательность, e) интронная последовательность, f) третья линкерная последовательность, g) первая последовательность UTR, h) последовательность, кодирующая трансген (например, HuGlyFab), i) вторая последовательность UTR, j) четвертая линкерная последовательность, k) последовательность поли A, l) пятая линкерная последовательность и m) вторая последовательность ITR, причем трансген содержит сигнал и причем трансген кодирует последовательность легкой цепи и тяжелой цепи, разделенные расщепляемой последовательностью F/F2A ,

5.1.9 Изготовление и тестирование векторов

[81] Представленные в настоящем документе вирусные векторы могут быть изготовлены с использованием клеток-хозяев. Представленные в настоящем документе вирусные векторы могут быть изготовлены с использованием клеток-хозяев млекопитающих, например, клеток A549, WEHI, 10T1/2, BHK, MDCK, COS1, COS7, BSC 1, BSC 40, BMT 10, VERO, W138, HeLa, 293, Saos, C2C12, L, HT1080, HepG2, первичных фибробластов, гепатоцитов и миобластов. Представленные в настоящем документе вирусные векторы могут быть изготовлены с использованием клеток-хозяев от человека, обезьяны, мыши, крысы, кролика или хомяка.

[82] Клетки-хозяева стабильно трансформируются с помощью последовательностей, кодирующих трансген и ассоциированные элементы (например, векторный геном), и средств производства вирусов в клетках-хозяевах, например, репликационных и капсидных генов (например, гены rep и cap AAV). Способ получения

рекомбинантных векторов AAV с капсидами AAV8 смотрите в разделе IV подробного описания патента США № 7282992 B2, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Титры копий генома указанных векторов могут быть определены, например, анализом TAQMAN®. Вирионы могут быть выделены, например, путем осаждения $CsCl_2$.

[83] Альтернативно, для получения AAV-векторов могут быть использованы бакуловирусные системы экспрессии в клетках насекомых. Обзор смотрите в публикации Aponte-Ubillus et al., 2018, Appl. Microbiol. Biotechnol. 102:1045-1054, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для технологий изготовления.

[84] Анализы in vitro, например, анализы клеточной культуры, можно использовать для измерения экспрессии трансгена из вектора, описанного в настоящем документе, что указывает, например, на эффективность вектора. Например, клеточная линия PER.C6® (Lonza), клеточная линия, полученная из эмбриональных клеток сетчатки человека или эпителиальных клеток пигмента сетчатки, например, клеточная линия пигментного эпителия сетчатки hTERT RPE-1 (доступной от ATCC®), может использоваться для оценки экспрессии трансгена. После экспрессии можно определить характеристики экспрессированного продукта, включая в себя определение характера гликозилирования и сульфатирования тирозина, связанного с HuGlyFab. Паттерны гликозилирования и способы его определения обсуждаются в разделе 5.2.1, а паттерны сульфатирования тирозина и способы его определения - в разделе 5.2.2. Кроме того, преимущества, возникающие в результате гликозилирования/сульфатирования экспрессируемого клетками HuGlyFab, могут быть определены с использованием анализов, известных в настоящей области техники, например, способами, описанными в разделах 5.2.1 и 5.2.2.

5.1.10 Композиции

[85] Фармацевтические композиции, подходящие для введения субъектам-людям, содержат суспензию рекомбинантного вектора в буфере для состава, содержащем физиологически совместимый водный буфер, поверхностно-активное вещество и необязательные вспомогательные вещества. Такой буфер для состава может содержать одно или более из полисахаридов, поверхностно-активных веществ, полимера или масла.

5.2 N-гликозилирование, сульфатирование тирозина и O-гликозилирование

[86] Аминокислотная последовательность (первичная последовательность) раскрытых в настоящем документе HuGlyFab и HuPTM scFv содержит по меньшей мере один сайт, в котором происходит N-гликозилирование или сульфатирование тирозина (смотрите фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5D, 6, 7A-7B, 8A-8H и 9A-9B для положений

гликозилирования и/или сульфатирования в аминокислотных последовательностях Fab-фрагментов терапевтических антител).

5.2.1 N-гликозилирование

Обратные сайты гликозилирования

[87] Каноническая последовательность N-гликозилирования известна в настоящей области техники как Asn-X-Ser (или Thr), где X может представлять собой любую аминокислоту, кроме Pro. Однако недавно было продемонстрировано, что остатки аспарагина (Asn) человеческих антител могут быть гликозилированы в контексте обратного консенсусного мотива Ser (или Thr)-X-Asn, где X может представлять собой любую аминокислоту, кроме Pro. Смотрите Valliere-Douglass et al., 2009, J. Biol. Chem. 284:32493-32506; and Valliere-Douglass et al., 2010, J. Biol. Chem. 285:16012-16022. Как раскрыто в настоящем документе, определенные раскрытые в настоящем документе HuGlyFab и HuPTM scFv содержат такие обратные консенсусные последовательности.

Неконсенсусные сайты гликозилирования

[88] В дополнение к обратным сайтам N-гликозилирования недавно было продемонстрировано, что остатки глутамина (Gln) человеческих антител могут быть гликозилированы в контексте неконсенсусного мотива Gln-Gly-Thr. Смотрите Valliere-Douglass et al., 2010, J. Biol. Chem. 285:16012-16022. Удивительно, что некоторые из раскрытых в настоящем документе фрагментов HuGlyFab содержат такие неконсенсусные последовательности. Кроме того, O-гликозилирование предусматривает добавление N-ацетилгалактозамина к остаткам серина или треонина посредством фермента. Было продемонстрировано, что аминокислотные остатки, присутствующие в шарнирной области антител, могут быть O-гликозилированными. Возможность O-гликозилирования дает другое преимущество представленным в настоящем документе терапевтическим антителам по сравнению, например, с антигенсвязывающими фрагментами, производимыми в *E. coli*, опять же, поскольку *E. coli* в природе не содержит механизма, эквивалентного тому, который используется в O-гликозилировании человека. (Вместо этого, O-гликозилирование у *E. coli* было продемонстрировано только тогда, когда бактерии модифицированы, чтобы содержать специфические механизмы O-гликозилирования. Смотрите, например, Farid-Moayer et al., 2007, J. Bacteriol. 189:8088-8098).

Сконструированные сайты N-гликозилирования

[89] Согласно некоторым вариантам осуществления нуклеиновую кислоту, кодирующую HuGlyFab или HuTPM scFv, модифицируют так, чтобы она включала в себя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более сайтов N-гликозилирования (включая в себя каноническую консенсусную последовательность N-гликозилирования, обратный сайт N-

гликозилирования и неконсенсусные сайты N-гликозилирования), которые обычно ассоциируются с HuGlyFab или HuPTM scFv (например, относительно количества сайтов N-гликозилирования, связанных с HuGlyFab или HuPTM scFv в немодифицированном состоянии). Согласно конкретным вариантам осуществления введение сайтов гликозилирования осуществляется путем вставки сайтов N-гликозилирования (включая в себя каноническую консенсусную последовательность N-гликозилирования, обратный сайт N-гликозилирования и неконсенсусные сайты N-гликозилирования) в любой части первичной структуры антигенсвязывающего фрагмента, при условии, что указанное введение не влияет на связывание антигенсвязывающего фрагмента с его антигеном. Введение сайтов гликозилирования может быть осуществлено, например, путем добавления новых аминокислот к первичной структуре антигенсвязывающего фрагмента или антитела, из которого получен антигенсвязывающий фрагмент (т.е. сайты гликозилирования добавляются полностью или частично) или путем мутирования существующих аминокислот в антигенсвязывающем фрагменте или антителе, из которого получен антигенсвязывающий фрагмент, для создания сайтов N-гликозилирования (т.е. аминокислоты не добавляются к антигенсвязывающему фрагменту/антителу, но выбранные аминокислоты антигенсвязывающего фрагмента/антитела мутируют так, чтобы образовать сайты N-гликозилирования). Специалистам в настоящей области техники должно быть понятно, что аминокислотная последовательность белка может быть легко модифицирована с использованием подходов, известных в настоящей области техники, например, рекомбинантных подходов, которые предусматривают модификацию последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей белок.

[90] Согласно конкретному варианту осуществления HuGlyMab или антигенсвязывающий фрагмент модифицируется таким образом, что при экспрессии в клетках млекопитающих, таких как сетчатка, ЦНС, печень или мышечные клетки, он может быть гипергликозилирован. Смотрите публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8:99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

N-гликозилирование антигенсвязывающих фрагментов HuPTM

[91] В отличие от низкомолекулярных лекарственных средств, биопрепараты, как правило, содержат смесь многих вариантов с различными модификациями или формами, которые могут характеризоваться различной активностью, фармакокинетикой и/или профилем безопасности. Не обязательно, чтобы каждая молекула, производимая в рамках генной или белковой терапии, была полностью гликозилированной и сульфатированной. Скорее, популяция произведенных гликопротеинов должна иметь достаточное гликозилирование (включая в себя 2,6-сиалилирование) и сульфатирование, чтобы

продемонстрировать эффективность. Цель лечения генной терапией, представленного в настоящем документе, может заключаться, например, в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование заболевания или аномального состояния или уменьшить тяжесть одного или более симптомов, связанных с заболеванием или аномальным состоянием.

[92] Когда HuGlyFab или HuPTM scGv экспрессируется в клетке человека, сайты N-гликозилирования антигенсвязывающего фрагмента могут гликозилироваться различными гликанами. N-гликаны антигенсвязывающих фрагментов были охарактеризованы в настоящей области техники. Например, в публикации Bondt et al., 2014, Mol. & Cell. Proteomics 13.11:3029-3039 (полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов; смотрите также фиг. 10) охарактеризованы гликаны, ассоциированные с Fab, и продемонстрировано, что части Fab и Fc антител содержат отличные паттерны гликозилирования, причем гликаны Fab характеризуются высоким галактозилированием, сиалилированием и делением пополам (например, с делением пополам GlcNAc), но низким фукозилированием по отношению к Fc гликанам. Подобно Bondt, авторами публикации Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207 (полностью включенной в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов) обнаружено, что большинство гликанов Fab сиалилированы. Однако в Fab антитела, исследованного Huang (который был получен в фоне мышиных клеток), идентифицированными сиаловыми остатками были N-гликолилнейраминовая кислота («Neu5Gc» или «NeuGc») (что не является природным для человека) вместо N-ацетилнейраминовой кислоты («Neu5Ac», преобладающая сиаловая кислота человека). Кроме того, в публикации Song et al., 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666 (полностью включенной в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов) описана библиотека N-гликанов, связанных с коммерчески доступными антителами.

[93] Важно, что когда HuGlyFab или HuPTM scFv экспрессируются в клетках человека, необходимость в производстве *in vitro* в прокариотических клетках-хозяевах (например, *E. coli*) или эукариотических клетках-хозяевах (например, клетках CHO или клетках NS0) исключается. Вместо этого, в результате описанных в настоящем документе способов сайты N-гликозилирования HuGlyFab или HuPTM scFv преимущественно «декорируют» гликанами, подходящими и применимыми для лечения людей. Такое преимущество недостижимо, когда клетки CHO, клетки NS0 или *E. coli* используются в производстве антител/антигенсвязывающих фрагментов, потому что, например, клетки CHO (1) не экспрессируют 2,6-сиалилтрансферазу и, следовательно, не могут добавлять 2,6-

сиаловую кислоту во время N-гликозилирования; (2) могут добавлять Neu5Gc в виде сиаловой кислоты вместо Neu5Ac и (3) могут также производить иммуногенный гликан, антиген α-Gal, который реагирует с антителами к α-Gal, присутствующими у большинства индивидуумов, которые при высоких концентрациях могут вызывать анафилаксию; и потому что (4) *E. coli* не содержит в природе компонентов, необходимых для N-гликозилирования.

[94] Анализы для определения паттерна гликозилирования антител, включая в себя антигенсвязывающие фрагменты, известны в настоящей области техники. Например, гидразинолиз может быть использован для анализа гликанов. Во-первых, полисахариды высвобождаются из связанного с ними белка путем инкубации с гидразином (можно использовать набор Ludger Liberate Hydrazinolysis Glycan Release Kit, Оксфордшир, Великобритания). Нуклеофильный гидразин атакует гликозидную связь между полисахаридом и белком-носителем и позволяет высвобождать связанные гликаны. N-ацетильные группы теряются во время этой обработки и должны быть восстановлены путем повторного N-ацетилирования. Гликаны также могут высвобождаться с использованием ферментов, таких как гликозидазы или эндогликозидазы, такие как PNGase F и Endo H, которые расщепляются чисто и с меньшим количеством побочных реакций, чем гидразины. Свободные гликаны могут быть очищены на углеродных колонках и затем помечены на восстанавливающем конце фторофор-2-аминобензамидом. Меченые полисахариды могут быть разделены на колонке GlycoSep-N (GL Sciences) в соответствии с протоколом ВЭЖХ публикации Royle et al, Anal Biochem 2002, 304(1):70-90. Полученная флуоресцентная хроматограмма показывает длину полисахарида и количество повторяющихся звеньев. Структурная информация может быть собрана путем сбора отдельных пиков и последующего выполнения анализа MC/MC. Таким образом, моносахаридная композиция и последовательность повторяющегося звена могут быть подтверждены и, кроме того, может быть идентифицирована гомогенность полисахаридной композиции. Конкретные пики низкой или высокой молекулярной массы могут быть проанализированы с помощью MALDI-MC/MC, и результат использован для подтверждения последовательности гликана. Каждый пик на хроматограмме соответствует полимеру, например, гликану, состоящему из определенного числа повторяющихся звеньев и фрагментов, например, их остатков сахара. Таким образом, хроматограмма позволяет измерять распределение полимера, например, гликана, по длине. Время элюирования является показателем длины полимера, в то время как интенсивность флуоресценции коррелирует с молярным содержанием соответствующего полимера, например. гликана. Другие способы оценки гликанов, связанных с антигенсвязывающими фрагментами, включают в себя способы, описанные

Bondt et al., 2014, Mol. & Cell. Proteomics 13.11:3029-3039, Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207 и/или Song et al., 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666.

[95] Гомогенность или гетерогенность гликановых паттернов, связанных с антителами (включая в себя антигенсвязывающие фрагменты), поскольку это относится как к длине или размеру гликана, так и к количеству гликанов, присутствующих в сайтах гликозилирования, можно оценить с использованием способов, известных в настоящей области техники, например, способов измерения длины или размера гликана и гидродинамического радиуса. ВЭЖХ, такая как эксклюзионная, с нормальной фазой, с обращенной фазой и анионообменная ВЭЖХ, а также капиллярный электрофорез, позволяет измерять гидродинамический радиус. Более высокое количество сайтов гликозилирования в белке приводит к более сильному изменению гидродинамического радиуса по сравнению с носителем с меньшим количеством сайтов гликозилирования. Однако, когда анализируются отдельные гликановые цепи, они могут быть более однородными из-за более контролируемой длины. Длина гликана может быть измерена с помощью гидразинолиза, ДСН-ПААГ и капиллярного гель-электрофореза. Кроме того, гомогенность может также означать, что определенные паттерны использования сайта гликозилирования изменяются в более широком/более узком диапазоне. Эти факторы могут быть измерены с помощью гликопептида ЖХ-МС/МС.

[96] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или их антигенсвязывающие фрагменты также не содержат обнаруживаемые NeuGc и/или α-Gal. Термин «обнаруживаемый NeuGc» или «обнаруживаемый α-Gal» или «не содержит или не имеет NeuGc или α-Gal» означает в настоящем документе, что HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент не содержит фрагменты NeuGc или α-Gal, обнаруживаемые с помощью стандартных способов анализа, известных в настоящей области техники. Например, NeuGc может быть обнаружен с помощью ВЭЖХ в соответствии с публикацией Hara et al., 1989, “Highly Sensitive Determination of *N*-Acetyl-and *N*-Glycolylneuraminic Acids in Human Serum and Urine and Rat Serum by Reversed-Phase Liquid Chromatography with Fluorescence Detection.” J. Chromatogr., B: Biomed. 377, 111–119, которая настоящим включена посредством ссылки для способа обнаружения NeuGc. Альтернативно, NeuGc может быть обнаружен с помощью масс-спектрометрии. A-Gal может быть обнаружен с использованием ELISA, смотрите, например, Galili et al., 1998, “A sensitive assay for measuring α-Gal epitope expression on cells by a monoclonal anti-Gal antibody.” Transplantation. 65(8):1129-32, или с помощью масс-спектрометрии, смотрите, например, Ayoub et al., 2013, “Correct primary structure assessment and extensive glyco-profiling of cetuximab by a combination of intact, middle-up, middle-down and bottom-up ESI and MALDI mass

spectrometry techniques." Landes Bioscience. 5(5):699–710. Смотрите также ссылки, цитируемые в Platts-Mills et al., 2015, "Anaphylaxis to the Carbohydrate Side-Chain Alpha-gal" Immunol Allergy Clin North Am. 35(2): 247–260.

Преимущества N-гликозилирования

[97] N-гликозилирование дает многочисленные преимущества для описанных в настоящем документе HuGlyFab или HuPTM scFv. Такие преимущества недостижимы при производстве антигенсвязывающих фрагментов в *E. coli*, поскольку *E. coli* в природе не обладает компонентами, необходимыми для N-гликозилирования. Кроме того, некоторые преимущества недостижимы из-за производства антител, например, в клетках CHO (или мышиных клетках, таких как клетки NS0), поскольку в клетках CHO отсутствуют компоненты, необходимые для добавления определенных гликанов (например, 2,6 сиаловой кислоты и рассечения GlcNAc), и потому что либо CHO, либо мышиные клеточные линии добавляют NN-гликолилнейраминовую кислоту («Neu5Gc» или «NeuGc»), которая не является природной для человека (и потенциально иммуногенной), вместо N-ацетилнейраминовой кислоты («Neu5Ac»), преобладающей сиаловой кислоты человека. Смотрите, например, публикации Dumont et al., 2015, Crit. Rev. Biotechnol. 36(6):1110-1122; Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207 (NeuGc является преобладающей сиаловой кислотой в мышиных клеточных линиях, таких как SP2/0 и NS0) и Song et al., 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Кроме того, клетки CHO могут также производить иммуногенный гликан, антиген α-Gal, который реагирует с антителами к α-Gal, присутствующими у большинства людей, что при высоких концентрациях может вызывать анафилаксию. Смотрите, например, Bosques, 2010, Nat. Biotech. 28:1153-1156. Описанный в настоящем документе паттерн гликозилирования человека HuGlyFab HuPTM scFv должен снижать иммуногенность трансгенного продукта и повышать эффективность.

[98] Хотя неканонические сайты гликозилирования, как правило, приводят к низкому уровню гликозилирования (например, 1-5%) популяции антител, функциональные преимущества могут быть значительными (смотрите, например, van de Bovenkamp et al., 2016, J. Immunol. 196:1435-1441). Например, гликозилирование Fab может влиять на стабильность, время полужизни и характеристики связывания антитела. Чтобы определить влияние гликозилирования Fab на аффинность антитела к его мишени, может быть использован любой способ, известный специалисту в настоящей области техники, например, твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) или поверхностный плазмонный резонанс (SPR). Чтобы определить влияние гликозилирования Fab на время полужизни антитела, может быть использован любой способ, известный специалисту в

настоящей области техники, например, путем измерения уровней радиоактивности в крови или органах у субъекта, которому введено меченное радиоактивным изотопом антитело. Для определения влияния гликозилирования Fab на стабильность, например, уровней агрегации или разворачивания белка антитела, может быть использован любой способ, известный специалисту в настоящей области техники, например, дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), например, эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография (SEC-HPLC), капиллярный электрофорез, масс-спектрометрия или измерение мутности.

[99] Наличие сиаловой кислоты на HuGlyFab или HuPTM scFv, используемых в описанных в настоящем документе способах, может влиять на скорость клиренса HuGlyFab или HuPTM scFv. Соответственно, образцы сиаловой кислоты HuGlyFab или HuPTM scFv могут быть использованы для создания терапевтического средства, имеющего оптимизированную скорость клиренса. Способы оценки скорости клиренса антигенсвязывающих фрагментов известны в настоящей области техники. Смотрите, например, Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207.

[100] Согласно другому конкретному варианту осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, представляет собой сниженную агрегацию. Занятые сайты N-гликозилирования могут маскировать склонные к агрегации аминокислотные остатки, что приводит к снижению агрегации. Такие сайты N-гликозилирования могут быть нативными по отношению к антигенсвязывающему фрагменту, используемому в настоящем документе, или могут быть встроены в антигенсвязывающий фрагмент, используемый в настоящем документе, в результате чего HuFlyFab или HuPTM scFv менее склонны к агрегации при экспрессии, например, экспрессируются в клетках человека. Способы оценки агрегации антител известны в настоящей области техники. Смотрите, например, Courtois et al., 2016, mAbs 8:99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

[101] Согласно другому конкретному варианту осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, заключается в снижении иммуногенности. Такие сайты N-гликозилирования могут быть нативными для антигенсвязывающего фрагмента, использованного в настоящем документе, или могут быть встроены в антигенсвязывающий фрагмент, используемый в настоящем документе, что приводит к HuGlyFab или HuPTM scFv, которые менее склонны к иммуногенности при экспрессии, например, экспрессируются в клетках сетчатки человека, клетках ЦНС человека, клетках печени человека или мышечных клетках человека.

[102] Согласно другому конкретному варианту осуществления преимуществом N-гликозилирования заключается в стабильности белка. Хорошо известно, что N-гликозилирование белков придает им стабильность, и в настоящей области техники известны способы оценки стабильности белка, возникающего в результате N-гликозилирования. Смотрите, например, Sola and Griebenow, 2009, J Pharm Sci., 98(4): 1223–1245.

[103] Согласно другому конкретному варианту осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, представляет собой измененную аффинность связывания. В настоящей области техники известно, что присутствие сайтов N-гликозилирования в вариабельных доменах антитела может увеличивать аффинность антитела к его антигену. Смотрите, например, Bovenkamp et al., 2016, J. Immunol. 196:1435-1441. Анализы для измерения аффинности связывания антител известны в настоящей области техники. Смотрите, например, Wright et al., 1991, EMBO J. 10:2717-2723 и Leibiger et al., 1999, Biochem. J. 338:529-538.

5.2.2 Сульфатирование тирозина

[104] Сульфатирование тирозина происходит в остатках тирозина (Y) с глутаматом (E) или аспартатом (D) в пределах от +5 до -5 положения от Y, и где положение -1 Y представляет собой нейтральную или кислую заряженную аминокислоту, но не основную аминокислоту, например, аргинин (R), лизин (K) или гистидин (H), которая устраняет сульфатирование. Удивительно, что описанные в настоящем документе HuGlyFab и HuPTM scFv содержат сайты сульфатирования тирозина (смотрите фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A-4B, 5A-5D, 6, 7A-7B, 8A-8H и 9A-9B).

[105] Важно отметить, что антигенсвязывающие фрагменты с сульфатированным тирозином не могут быть получены в *E. coli*, которая в природе не обладает ферментами, необходимыми для сульфатирования тирозина. Кроме того, клетки CHO дефицитны для сульфатирования тирозина - они не являются секреторными клетками и имеют ограниченную способность к посттрансляционному сульфатированию тирозина. Смотрите, например, Mikkelsen & Ezban, 1991, Biochemistry 30: 1533-1537. Преимущественно способы, представленные в настоящем документе, требуют экспрессии Fab HuPTM в клетках человека, которые являются секреторными и обладают способностью к сульфатированию тирозина.

[106] Сульфатирование тирозина выгодно по нескольким причинам. Например, было показано, что сульфатирование тирозина антигенсвязывающего фрагмента терапевтических антител против мишеней резко увеличивает авидность к антигену и активность. Смотрите, например, Loos et al., 2015, PNAS 112: 12675-12680 и Choe et al.,

2003, Cell 114: 161-170. Анализы для выявления сульфатирования тирозина известны в настоящей области техники. Смотрите, например, Yang et al., 2015, Molecules 20:2138-2164.

5.2.3 О-гликозилирование

[107] О-гликозилирование предусматривает добавление N-ацетилгалактозамина к остаткам серина или треонина ферментом. Было продемонстрировано, что аминокислотные остатки, присутствующие в шарнирной области антител, могут быть О-гликозилированными. Согласно определенным вариантам осуществления HuGlyFab содержит всю или часть их шарнирной области и, таким образом, способны к О-гликозилированию при экспрессии в клетках человека. Возможность О-гликозилирования дает другое преимущество HuGlyFab, предоставленному в настоящем документе, по сравнению, например, с антигенсвязывающими фрагментами, производимыми в *E. coli*, опять же, потому что *E. coli* в природе не содержит механизма, эквивалентного тому, который используется при человеческом О-гликозилировании. (Вместо этого, О-гликозилирование в *E. coli* было продемонстрировано только тогда, когда бактерии модифицированы, чтобы содержать специфические механизмы О-гликозилирования. Смотрите, например, Farid-Moayer et al., 2007, J. Bacteriol. 189:8088-8098. О-гликозилированный HuGlyFab благодаря наличию гликанов обладает общими характеристиками с N-гликозилированным HuGlyFab (как обсуждалось выше).

5.3 ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА НА ОСНОВЕ ВЕКТОРОВ

5.3.1 Анти-ABeta HuPTM конструкции и составы для лечения болезни Альцгеймера

[108] Описаны композиции и способы для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с пептидами амилоид бета (Aβ или Abeta), полученными из белка-предшественника амилоида, который может иметь преимущество при лечении болезни Альцгеймера (AD) и т.п. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb представляет собой адуканумаб, кренезумаб, гантенерумаб или BAN2401 или антигенсвязывающий фрагмент одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов этих антител представлены на фиг. 2A-2C и 2F. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей конструкции ДНК, кодирующей Aβ-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов AD, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[109] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с Aβ, которые можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с Aβ, такого как адуканумаб, кренезумаб, гантенерумаб или BAN2401 или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген также может кодировать анти-Aβ антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

[110] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части адуканумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 2A). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 101 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи адуканумаба) и SEQ ID NO: 102 (кодирующие Fab-часть легкой цепи адуканумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или одной из последовательностей, представленных в таблице 1 выше.

[111] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-Aβ антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 1 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 2A. Эти

шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 1 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 4 (SEQ ID NO: 101).

[112] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой

цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[113] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab адуканумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T119N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[114] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR адуканумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 2A, которые разнесены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к Aβ или его антигенсвязывающего фрагмента.

[115] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части кренезумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 3 и 4, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 2B). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 103 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи кренезумаба) и SEQ ID NO: 104 (кодирующие Fab-часть легкой цепи кренезумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или сигнальной последовательностью, приведенной в таблице 1.

[116] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления домен, связывающий анти-Aβ антиген, содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого тирозина (Y), содержащей всю или часть

аминокислотной последовательности GPPCPPCPA (SEQ ID NO: 229) или GPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 230), как показано на фиг. 2B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 3 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5 (SEQ ID NO: 103).

[117] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 3. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 3. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2B) или

представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[118] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab кренезумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T107N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[119] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR кренезумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 2B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к Aβ или его антигенсвязывающего фрагмента.

[120] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части гантенерумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5 и 6, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 2C). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 105 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи гантенерумаба) и SEQ ID NO: 106 (кодирующие Fab-часть легкой цепи гантенерумаба), как представлено в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или сигнальной последовательностью, представленной в таблице 1.

[121] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-Aβ антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен

тяжелой цепи SEQ ID NO: 5 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся в С-концевом аспартате (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 2С. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 5 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5 (SEQ ID NO: 105).

[122] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 6. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 5. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 6, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 5. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2С) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11А. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент

содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[123] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab гантенерумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 5 и 6, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L121N (тяжелая цепь), Q161N или Q161S (легкая цепь) и/или E196N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[124] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR гантенерумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи на фиг. 2C, которые расположены между каркасными областями, в основном человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к Aβ или его антигенсвязывающего фрагмента.

[125] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части BAN2401 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 57 и 58, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 2F). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 157 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи BAN2401) и SEQ ID NO: 158 (кодирующие Fab-часть легкой цепи BAN2401), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или одной из последовательностей, представленных в таблице 1 выше.

[126] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-Aβ антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 57 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) или KTHLCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 239) и, в частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225) или KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), как показано на фиг. 2F. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 57 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 4 (SEQ ID NO: 157).

[127] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 58. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 57. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 58, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 57. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2F) или представляют собой

замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2F) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[128] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный BAN2401Fab, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 57 и 58, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T119N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[129] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR BAN2401, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 2F, которые разнесены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к Aβ или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[130] Представлены способы лечения людей с AD путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой адуканумаб, кренезумаб, гантенерумаб или BAN2401 и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно определенным вариантам осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с продромальным AD, т.е. с легким когнитивным нарушением, связанным с ранним AD или даже до AD. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.1 и показаны на фиг. 2A-C. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут

капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантные векторы можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). Смотрите раздел 5.5.1 для получения подробной информации о способах лечения.

[131] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-Aβ терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых была диагностирована AD или у которых один или более симптомов связаны с ней и которые определены как отвечающие на лечение антителом к Aβ или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к Aβ. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью адуканумаба, кренезумаба, гантенерумаба или BAN2401, и было обнаружено, что они чувствительны к одному или более из адуканумаба, кренезумаба, гантенерумаба или BAN2401. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к Aβ или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимый в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[132] Производство HuPTM mAb к Aβ или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения AD, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-Aβ HuPTM Fab, интратекально, особенно посредством интрацистернального или поясничного введения, или внутривенного введения субъектам-людям (пациентам), у которых диагностирована AD или имеется один или более симптомов AD, чтобы создать постоянное депо в ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками ЦНС.

[133] Конструкция кДНК для HuPTMmAb к Aβ или анти-Aβ HuPTM Fab должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161).

[134] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к Aβ или HuPTM Fab могут быть произведены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом AD или тем, для которых терапия AD считается уместной.

[135] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей адуканумаба, как показано на фиг. 2A (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными зеленым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными синим цветом, и сайтами сульфатирования Y, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N166 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 1) или N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 2). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи адуканумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 1) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 2). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в настоящей области техники, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в настоящей области техники, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal.

[136] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей кренезумаба, как показано на фиг. 2B (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными зеленым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными синим цветом, и сайтами сульфатирования Y, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N52, Q104, N154 и/или N196 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 3) или Q105, N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 4). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи кренезумаба имеет группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 3) и/или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 4). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[137] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными

последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей гантенерумаба, как показано на фиг. 2C (с сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными пурпурным цветом, неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными зеленым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными синим цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям N52, N77, Q118 и/или N168 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 5) или Q101, N159 и/или N211 легкой цепи (SEQ ID №: 6). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи гантенерумаба имеет группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 5) и/или Y87 и/или Y88 легкой цепи (SEQ ID NO: 6). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[138] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи BAN2401, как показано на фиг. 2F (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными зеленым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными синим цветом, и сайтами сульфатирования Y, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q116 и/или N166 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 57) или N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 58). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи BAN2401 имеет группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 57) и/или Y91 легкой цепи (SEQ ID NO: 58). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[139] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6-сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Цель лечения генной терапией, представленной в настоящем документе, состоит в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование AD, в частности когнитивное нарушение.

Эффективность может контролироваться путем измерения уменьшения образования бляшек и/или улучшения когнитивной функции или снижения ухудшения когнитивной функции.

[140] Комбинации доставки HuPTM mAb к Aβ или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения AD, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, ARICEPT® (донепезил), RAZADYNE® (галантамин), NAMENDA® (ривастигмин) и NAMZARIC® (донепезил и мемантин), чтобы назвать несколько, и введение с анти-Aβ средствами, включая в себя, без ограничения, адуканумаб, кренезумаб, гантенерумаб или BAN2401, или анти-тау средствами, такими как aTAU.

5.3.2. Анти-тау HuPTM конструкции и составы для таупатий, таких как болезнь Альцгеймера, хроническая травматическая энцефалопатия, прогрессирующий надъядерный паралич или лобно-височная деменция

[141] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с белком тау (Tau), таким как мономерный тау, олигомерный тау, нефосфорилированный тау и фосфорилированный тау, что может быть применимо при лечении болезни Альцгеймера (AD), хронической травматической энцефалопатии (CTE), комплекса Пика, первичной возрастной таупатии, прогрессирующего надъядерного паралича (PSP), лобно-височной деменции (FD) и других таупатий. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb представляет собой антитело, имеющее фрагменты Fab, представленные на фиг. 2D (называемый в настоящем документе «aTAU»), или его антигенсвязывающий фрагмент. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей тау-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или его гипергликозилированное производное или другое производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов AD, CTE, PSP, FD или других таупатий, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[142] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb),

который связывается с тау, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с тау, такого как aTAU или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-тау антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

[143] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части aTAU (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 53 и 54, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 2D). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 153 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи aTAU) и SEQ ID NO: 154 (кодирующие Fab-часть легкой цепи aTAU), как показано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или одной из последовательностей, представленных в таблице 1 выше.

[144] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-Tau антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 53 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности GPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 231) и, в частности, GPPCPPCPA (SEQ ID NO: 229) или GPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 230), как показано на фиг. 2D. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3’-конце SEQ ID NO: 53 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 4 (SEQ ID NO: 153).

[145] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген тау фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по

меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген тау фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 53. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 54, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 53. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген тау фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2D) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген тау фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2D) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[146] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный aTAU Fab, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 53 и 54, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T110N (тяжелая цепь), Q164N или Q164S (легкая цепь) и/или E199N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[147] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR aTAU, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 2D, которые расположены между каркасными областями, в основном человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к тау или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[148] Представлены способы лечения субъектов-людей от AD, CTE, PSP, FD или других таупатий путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к тау или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой aTAU и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно определенным вариантам осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с продромальным AD, т.е. с легким когнитивным нарушением, связанным с ранним AD или даже до AD. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.1 и показан на фиг. 2D. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантные векторы можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). Смотрите раздел 5.5.1 для получения подробной информации о способах лечения.

[149] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-тау терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы предусматривают лечение пациентов, у которых были диагностированы AD, PSP или FD или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к тау или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к тау. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью aTAU, и было обнаружено, что они чувствительны к одному или более из aTAU. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к тау или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[150] Производство HuPTM mAb к тау или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения AD, PSP или FD, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-тау HuPTM Fab, интратекально, особенно посредством интрацистернального или поясничного введения, или внутривенного введения субъектам-людям (пациентам), у которых диагностированы или имеется один или более симптомов AD, PSP или FD, чтобы создать постоянное депо в ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками ЦНС.

[151] Конструкция кДНК для HuPTMmAb к тау или анти-тау HuPTM Fab должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161).

[152] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к тау или HuPTM Fab могут быть произведены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом AD PSP или FD или тем, для которых терапия AD, PSP или FD считается уместной.

[153] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к тау или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи aTAU, как показано на фиг. 2D (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными зеленым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными синим цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N57 и/или Q107, и/или N157, и/или N199 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 53), или N78, и/или Q104, и/или N162, и/или N214 легкой цепи (SEQ ID NO: 54) Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи aTAU имеет группу сульфатирования в Y96 и/или Y97 и/или Y104 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 53) и/или Y90 и/или Y91 легкой цепи (SEQ ID NO: 54). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к тау или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в настоящей области техники, например,

описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в настоящей области техники, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal.

[154] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6-сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование AD, PSP или FD, в частности когнитивных нарушений, грубых или мелких двигательных навыков или нарушений зрения. Эффективность может контролироваться путем измерения уменьшения образования бляшек и/или улучшения когнитивной функции, с помощью двигательных навыков или с помощью зрения или снижения ухудшения когнитивных функций, двигательных навыков или зрения.

[155] Комбинации доставки HuPTM mAb к тау или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения AD, PSP или FD, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, ARICEPT® (донепезил), RAZADYNE® (галантамин), NAMENDA® (ривастигмин) и NAMZARIC® (донепезил и мемантин), чтобы назвать несколько, и введение с анти-тау средствами, включая в себя, без ограничения, средства aTAU и анти-Aβ, такие как, без ограничения, адуканумаб, кренезумаб и гантенерумаб.

5.3.3. Анти-CGRPR HuPTM конструкции и составы для лечения мигреней **и кластерных головных болей.**

[156] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с пептидным рецептором, связанным с геном кальцитонина (CGRPR), который может быть применим при лечении мигреней и кластерных головных болей (относятся в совокупности к головным болям). Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb представляет собой эренумаб, эптинезумаб, фреманезумаб, галканезумаб или антигенсвязывающий фрагмент одного из указанных выше. Аминокислотная последовательность для Fab-фрагментов эренумаба представлена на фиг. 2E. Доставка может осуществляться посредством генной терапии - например, путем введения вирусного

вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей CGRPR-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов мигреней и кластерных головных болей, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человека PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[157] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с CGRPR, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с CGRPR, такие как эренумаб, эптинезумаб, фреманезумаб, галканезумаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе или в соответствии с подробностями, приведенными в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-CGRPR антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

[158] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части эренумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 55 и 56, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 2E). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 155 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи эренумаба) и SEQ ID NO: 156 (кодирующие Fab-часть легкой цепи эренумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или одной из последовательностей, представленных в таблице 1 выше.

[159] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам

осуществления анти-CGRPR антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 55 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности CPPCPAPPVAGG (SEQ ID NO: 232) и, в частности, CPPCPA (SEQ ID NO: 219) или CPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 233), как показано на фиг. 2E. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 55 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 4 (SEQ ID NO: 155).

[160] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент CGRPR, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 56. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент CGRPR, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 55. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 56, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 55. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген CGRPR фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2E) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген тау фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56

с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2E) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[161] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab эренумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 55 и 56, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T125N (тяжелая цепь) и/или Q198N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[162] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR эренумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 2E, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к тау или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[163] Представлены способы лечения субъектов-людей от мигреней и кластерных головных болей путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой эренумаб, эптинезумаб, фреманезумаб или галканезумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно определенным вариантам осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с эпизодическими мигренями или хроническими мигренями. Согласно определенным вариантам осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с эпизодическими кластерными головными болями или хроническими кластерными головными болями. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.1 и показан на фиг. 2E. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантные векторы можно вводить любым

способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). Смотрите раздел 5.5.1 для получения подробной информации о способах лечения.

[164] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-CGRPR терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых были диагностированы мигрени или кластерные головные боли или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к CGRPR или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к CGRPR. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью эренумаба, эптинезумаба, фреманезумаба или галканезумаба, и было обнаружено, что они чувствительны к одному или более из эренумаба, эптинезумаба, фреманезумаба и галканезумаба. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к CGRPR или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[165] Производство HuPTM mAb к CGRPR или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения мигреней или кластерных головных болей, осуществляемой с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей конструкцию HuPTM Fab к CGRPR, интратекально, в частности посредством интрацистернального или поясничного введения, или внутривенного введения субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов мигреней или кластерных головных болей, чтобы создать постоянное депо в ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками ЦНС.

[166] Конструкция кДНК для HuPTM mAb к CGRPR или анти-CGRPR HuPTM Fab должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161).

[167] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к CGRPR или HuPTM Fab могут производиться в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом мигрени

или кластерные головные боли, или тем, для кого терапия мигреней или кластерных головных болей считается целесообразной.

[168] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи эренумаба, как показано на фиг. 2E (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными зеленым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенные синим цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77 и/или Q122, и/или N172, и/или N205, и/или N214 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 55) или N28 и/или N174 легкой цепи (SEQ ID NO: 56). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи эренумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 55) и/или Y87 и/или Y88 легкой цепи (SEQ ID NO: 56). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в настоящей области техники, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в настоящей области техники, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal.

[169] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6 сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50%, или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Цель представленного в настоящем документе лечения генной терапией заключается в предотвращении или уменьшении интенсивности или частоты мигреней, кластерных головных болей или одного или более связанных с ними симптомов, включая в себя тошноту, чувствительность к свету, чувствительность к звуку, покраснение глаз, отек век, лоб и потливость лица, слезотечение (слезоотделение), ненормальный маленький размер зрачка (миоз), заложенность носа, насморк (ринорея) и опущенное веко (птоз). Эффективность может контролироваться путем измерения уменьшения интенсивности или частоты мигреней или кластерных головных болей или уменьшения количества острых специфических для мигрени лекарственных средств, используемых в течение определенного периода времени.

[170] Комбинации доставки HuPTM mAb к CGRPR или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные процедуры могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения кластерных головных болей или мигреней, которые могут сочетаться с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, триптаны, производные эрготамина и NSAID и многие другие, и введение анти-CGRPR средств, включая в себя, без ограничения, эренумаб, эптинезумаб, фреманезумаб и галканезумаб.

5.3.4 HuPTM конструкции и составы к интерлейкину и к рецептору интерлейкина при аутоиммунных нарушениях

[171] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с интерлейкинами (IL) или рецепторами интерлейкина (ILR) (например, *IL4R, IL17A, IL12/IL23* или *IL-5*), полученных из анти-IL или анти-ILR, указанных для лечения одного или более аутоиммунных заболеваний, таких как атопический дерматит, псориаз (например, бляшечный псориаз, пустулезный псориаз и эритродермический псориаз), артрит (например, псориатический артрит и алкилирующий спондилит), болезнь Крона или астма (далее совместно именуемые «заявленные AI-D»). Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью дупилумаба, иксекизумаба, секукинумаба, устекинумаба или меполизумаба или антигенсвязывающего фрагмента одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов этих антител представлены на фиг. 3A-3E, соответственно. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей IL/ILR-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов атопического дерматита, псориаза (например, бляшечного псориаза), артрита (например, псориатического артрита и алкилирующего спондилита), болезни Крона или астмы, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[172] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb),

который связывается с IL/ILR, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, связывающегося с IL/ILR, такой как дупилумаб, иксекизумаб, секукинумаб, устекинумаб, меполизумаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-IL/ILR антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[173] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL4R антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части дупилумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 3A). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 107 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи дупилумаба) и SEQ ID NO: 108 (кодирующие Fab-часть легкой цепи дупилумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[174] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого тирозина (Y), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности GPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 231) и, в частности, GPPCPPCPA (SEQ ID NO: 229) или GPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 230), как показано на фиг. 3A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными

последовательностями на 3’-конце SEQ ID NO: 7 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[175] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL4R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL4R фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 8. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL4R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL4R фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 7. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL4R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 8, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 7. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL4R фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL4R фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[176] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL4R антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab дупилумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T120N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[177] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL4R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR дупилумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 3A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL4R или его антигенсвязывающего фрагмента.

[178] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части иксекизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 3B). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 109 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи иксекизумаба) и SEQ ID NO: 110 (кодирующие Fab-часть легкой цепи иксекизумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[179] В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепи трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен

тяжелой цепи SEQ ID NO: 9 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого тирозина (Y), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности GPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 231) и, в частности, GPPCPPCPA (SEQ ID NO: 229) или GPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 230), как показано на фиг. 3B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 9 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[180] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL17A фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 10. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL17A фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 9. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL17A фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 10, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 9. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL17A фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL17A фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13

14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[181] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL-17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab иксекизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L114N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[182] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR иксекизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 3B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL17A или его антигенсвязывающего фрагмента.

[183] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части секукинумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 11 и 12, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 3C). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 111 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи секукинумаба) и SEQ ID NO: 112 (кодирующие Fab-часть легкой цепи секукинумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей,

указанных в таблице 2 или 3, которые соответствуют секретируемым белкам миоцитов или гепатоцитов, соответственно.

[184] В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепи трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 11 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHT CPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) и, в частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 3С. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 11 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[185] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL17A фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 12. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL17A фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 11. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 12, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 11. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL17A фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,

14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL17A фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[186] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab секукинумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 11 и 12, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L122N (тяжелая цепь), Q161N или Q161S (легкая цепь) и/или E196N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[187] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL17A антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR секукинумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 3C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL/ILR или его антигенсвязывающего фрагмента.

[188] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL-12/IL-23 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части устекинумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 3D). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 113 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи устекинумаба) и SEQ ID NO: 114 (кодирующие Fab-часть легкой цепи устекинумаба), как указано в

таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[189] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 13 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHT CPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) и, в частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 3D. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 13 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[190] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL12/IL23 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL/ILR фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 14. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL12/IL23 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL12/IL23 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 13. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL12/IL23 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 14, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 13. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL12/IL23 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3D) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL12/IL23 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3D), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[191] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL12/IL23 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab устекинумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L114N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[192] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL12/IL23 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR устекинумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи на фиг. 3D, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL12/IL23 или его антигенсвязывающего фрагмента.

[193] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL-5 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части меполизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 15 и 16, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 3E). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 115 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи меполизумаба) и SEQ ID NO: 116 (кодирующие Fab-часть легкой цепи меполизумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[194] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 15 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHT CPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) и, в частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 3E. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 15 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[195] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL-5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL-5 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 16. Согласно

определенным вариантам осуществления трансген анти-IL-5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL-5 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 15. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL-5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 16, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 15. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL-5 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3E) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген IL-5 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3E) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[196] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL-5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab меполизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 15 и 16, соответственно, с одной или более из следующих мутации: T114N (тяжелая цепь), Q166N или Q166S (легкая цепь) и/или E201N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[197] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-IL-5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит

нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR меполизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи на фиг. 3E, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL-5 или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[198] Представлены способы лечения субъектов-людей от одного или более заявленных AI-D путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к IL/ILR или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой дупилумаб, иксекизумаб, секукинумаб, устекинумаб или меполизумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента были диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с одним или более из заявленных AI-D. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать в себя не реплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 3A-3E, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток (или согласно альтернативному варианту осуществления в кровоток печени, например через печеночную артерию). Смотрите раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[199] Субъектами, которым вводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-IL/ILR терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых было диагностировано одно или более из заявленных AI-D или у которых есть один или более симптомов, связанных с ними, и которые идентифицированы как чувствительные к лечению антителом к IL/ILR или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к IL/ILR. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению дупилумабом, иксекизумабом, секукинумабом, устекинумабом или меполизумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к дупилумабу, иксекизумабу, секукинумабу, устекинумабу или меполизумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к IL/ILR

или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимый в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[200] Производство HuPTM mAb к IL/ILR или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или более заявленных AI-D, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-IL/ILR HuPTM Fab, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов одного или более из заявленных AI-D, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный человеком, сульфатированный трансгенный продукт, производимый трансдуцированными клетками печени или мышц.

[201] Конструкция кДНК для HuPTMmAb к IL/ILR или анти-IL/ILR HuPTM Fab должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени или мышц. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[202] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к IL/ILR или HuPTM Fab могут быть получены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом одного или более заявленных AI-D или для которых терапия для одного или более из заявленных AI-D считается подходящей.

[203] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к IL4R или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи дупилумаба, как показано на фиг. 3A (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77, N167 и/или Q117 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 7) или

Q105, N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 8). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи дупилумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 7) и/или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 8). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к IL4R или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[204] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к IL17A или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи иксекизумаба, как показано на фиг. 3B (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q111, N161 и/или N203 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 9) или Q105, N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 10). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи иксекизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 9) и/или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 10). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к IL17A или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат никаких обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов α-Gal.

[205] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к IL17A или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи секукинумаба, как показано на фиг. 3C (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N169 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 11) или Q101, N159 и/или N211 легкой цепи (SEQ ID NO: 12). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи секукинумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95, и/или Y107, и/или Y108 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 11) и/или Y 87 и/или Y88 легкой цепи (SEQ ID NO: 12). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к IL17A или его

антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов α-Gal.

[206] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к IL12/IL23 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей устекинумаба, как показано на фиг. 3D (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q111 и/или N161 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 13) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 14). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи устекинумаба содержит группу сульфатирования в Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 14). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к IL12/IL23 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов α-Gal.

[207] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к IL-5 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепи меполизумаба, как показано на фиг. 3E (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N76 и/или N161 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 15) или N22, N34, N164 и/или N216 легкой цепи (SEQ ID NO: 16). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи меполизумаба содержит группу сульфатирования в Y93 и/или Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 15) и/или Y92 и/или Y93 легкой цепи (SEQ ID NO: 16). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к IL-5 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[208] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6-сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже

50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование AI-D субъекта.

[209] Эффективность может контролироваться путем оценки симптомов или степени воспаления в пораженной ткани или области организма, например, таких как кожа, толстая кишка или суставы. Например, что касается CD, эффективность можно контролировать, оценивая индекс активности болезни Крона [CDAI] в течение курса лечения (например, смотрите Best WR et al. (1976) Gastroenterology 70(3):439-44, “Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study.”). Что касается псориаза и атопического дерматита, эффективность можно контролировать, оценивая изменения в пораженной коже или в качестве жизни пациента в течение курса лечения. Для оценки изменений можно использовать одну или более стандартизированных оценок. (Смотрите, например, публикацию Feldman & Krueger, (2005) Ann. Rheum. Dis. 64(Suppl II):ii65–ii68: “Psoriasis assessment tools in clinical trials”, в которой описаны стандартизированные оценки, включая в себя Индекс площади и тяжести псориаза (PASI), общую оценку врача (PGA), решетчатую систему, показатель псориаза NPF (NPF-PS), краткую оценку состояния здоровья по 36 пунктам на основании исследования течения заболевания (SF-36), Euro QoL, индекс качества жизни при дерматологических заболеваниях (DLQI) и Skindex; публикацию Schram et al. (2012) Allergy; 67: 99–106: “EASI, (objective) SCORAD and POEM for atopic eczema: responsiveness and minimal clinically important difference”, в которой описаны стандартизированные оценки, включая в себя Индекс площади поражения и степени тяжести экземы (EASI) и Индекс степени тяжести атопического дерматита (SCORAD)). Что касается артрита, эффективность можно контролировать, оценивая одну или более активностей заболевания, уровень функции пациента или степень структурного повреждения суставов пациента (например, смотрите публикацию Zockling & Braun (2005) Clin. Exp. Rheumatol 23 (Suppl. 39) S133-S141: “Assessment of ankylosing spondylitis”, в которой описана стандартизированная оценка анкилозирующего спондилита, смотрите также публикацию Coates et al. (2011) J. Rheumatol. 38(7):1496-1501: “Development of a disease severity and responder index for psoriatic arthritis (PsA)-report of the OMERACT 10 PsA special interest group”, в которой описаны стандартизированные оценки псориатического артрита).

[210] Комбинации доставки HuPTM mAb к IL/ILR или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцу, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения

генной терапией. Доступные способы лечения заявленных AI-D, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, фототерапию псориаза, аминосалицилаты, иммуномодулирующие средства (например, азатиоприн (AZA), 6-меркаптопурин (6-MP), метотрексат (MTX)), пероральные или местные кортикостероиды (например, преднизон или будесонид), местные ингибиторы кальциневрина, ингаляционные кортикостероиды для лечения астмы и/или антибиотики для лечения болезни Крона и введение анти-IL/ILR средств, включая в себя, без ограничения, дупилумаб, иксекизумаб, секукинумаб, устекинумаб или меполизумаб.

5.3.5 HuPTM конструкции и составы к интегрину при IBD или рассеянном склерозе

[211] Описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с интегрином (например, интегрином α4 или α4β7), полученным из анти-α4 интегрина или анти-α4β7 интегрина, и показаны для лечения воспалительных заболеваний кишечника (IBD), таких как язвенный колит (UC) или болезнь Крона (CD), и рассеянного склероза (MS). Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью ведолизумаба, натализумаба или антигенсвязывающего фрагмента одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов ведолизумаба и натализумаба представлены на фиг. 4A и 4B, соответственно. Доставка может быть осуществлена посредством генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей интегрин-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов IBD или MS, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[212] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с интегрином, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с интегрином, такого как

ведолизумаб, натализумаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-интегрин антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[213] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части ведолизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 17 и 18, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 4A). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 117 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи ведолизумаба) и SEQ ID NO: 118 (кодирующие Fab-часть легкой цепи ведолизумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[214] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 17 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELAGA (SEQ ID NO: 236) и, в частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELAGAPSVFL (SEQ ID NO: 237) или KTHLCPPCPAPELAGAPSVFL (SEQ ID NO: 238), как показано на фиг. 4A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 117 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[215] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген интегрин фрагмент,

содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 18. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген интегрин фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 17. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96% , 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 18, и тяжелую цепь содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или на 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 17. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген интегрин фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 с 1, 2, 3, 4, 5 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 4A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген интегрин фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 4A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[216] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab ведолизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 17 и 18, соответственно, с одной или

более из следующих мутаций: L116N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[217] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ведолизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 4A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к интегрину или его антигенсвязывающего фрагмента.

[218] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части натализумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 19 и 20, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 4B). Нуклеотидные последовательности могут представлять кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 119 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи натализумаба) и SEQ ID NO: 120 (кодирующие Fab-часть легкой цепи натализумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно. Альтернативно, особенно для лечения MS, тяжелая и легкая цепи содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках ЦНС человека, например, любую из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 1.

[219] В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепи трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен

тяжелой цепи SEQ ID NO: 19 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности GPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 231) и, в частности, GPPCPPCPA (SEQ ID NO: 229) или GPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 230), как показано на фиг. 4B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 119 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[220] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген интегрин фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 20. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген интегрин фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 19. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96% , 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 20, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или на 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 19. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген интегрин фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 с 1, 2, 3, 4, 5 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 4B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген интегрин фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами,

вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 4B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[221] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab натализумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 19 и 20, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L118N (тяжелая цепь), Q159N или Q159S (легкая цепь) и/или E194N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[222] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR натализумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 4B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к интегрину или его антигенсвязывающего фрагмента.

[223] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79) или капсида AANrh10 (SEQ ID NO: 80); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышц человека.

Способы генной терапии

[224] Представлены способы лечения людей с IBD или MS путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой ведолизумаб или натализумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента были диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с IBD, такие как UC или CD, или

MS. Согласно конкретным вариантам осуществления IBD может быть умеренно или сильно активным. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в Разделах 5.4.1 и 5.4.2. Согласно некоторым вариантам осуществления такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени человека и могут включать в себя нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 4A и 4B, могут быть введены любым способом, так что рекомбинантный вектор попадает в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите 5.5.2 для деталей относительно способов лечения. Согласно другим вариантам осуществления такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать в себя нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантный вектор, такой как показан на фиг. 4B, может быть введен любым способом, так что рекомбинантный вектор входит в ЦНС, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). Смотрите раздел 5.5.1 для получения подробной информации о способах лечения.

[225] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-интегрин терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых диагностирован IBD, MS или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к интегрину или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к интегрину. Согласно конкретным вариантам осуществления пациентов ранее подвергали лечению ведолизумабом и/или натализумабом, и было обнаружено, что они отвечают на ведолизумаб или натализумаб. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к интегрину или антигенсвязывающий фрагмент (например, производимый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[226] Производство HuPTM mAb или HuPTM Fab к интегрину должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения IBD или MS, осуществляемой с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции экспрессии ДНК, кодирующей HuPTM Fab к интегрину, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам), которым поставлен диагноз или имеется один или более симптомов IBD или MS, для создания постоянного депо в печени, мышцах или ткани ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, таким как

гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками печени, мышц или ЦНС.

[227] Конструкция кДНК для HuPTMmAb к интегрину или анти-интегрин HuPTM Fab должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени или мышц. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, согласно некоторым вариантам осуществления сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблицах 1, 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым клетками ЦНС, миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[228] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к интегрину или HuPTM Fab могут быть получены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и введены пациентам с диагнозом IBD или MS, или для которых терапия для IBD или MS считается подходящей.

[229] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей ведолизумаба, как показано на фиг. 4A (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q113 и/или N163 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 17) или Q105 и/или N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 18). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи ведолизумаба содержит группу сульфатирования в Y94, Y95 и/или Y106 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 17) и/или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 18). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[230] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей натализумаба, как показано на фиг. 4B (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными

голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q115, N165 и/или N207 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 19) или Q99, N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 20). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи натализумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 19) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 20). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[231] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5, 10 или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование IBD или MS, в частности уменьшение боли и дискомфорта для пациента и/или в случае MS, улучшение подвижности. Эффективность может контролироваться путем оценки симптомов или степени воспаления в пораженной ткани. Например, что касается UC, эффективность можно контролировать, оценивая по шкале Мейо и показателю по эндоскопической части шкалы Мейо в течение курса лечения (например, смотрите публикацию Lobaton et al. (2015) J. Crohns Colitis. 2015 Oct;9(10):846-52, “The Modified Mayo Endoscopic Score (MMES): A New Index for the Assessment of Extension and Severity of Endoscopic Activity in Ulcerative Colitis Patients.”). Что касается CD, эффективность можно контролировать, оценивая индекс активности болезни Крона [CDAI] в течение курса лечения (например, смотрите Best WR et al. (1976) Gastroenterology, Mar;70(3):439-44, “Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study.”). Например, что касается MS, эффективность можно контролировать, оценивая частоту рецидивов (например, годовой показатель рецидивов), статус физической инвалидности (например, степень инвалидизации по расширенной шкале инвалидности Куртцке (EDSS)) и биологические маркеры, включая в себя сканирование головного мозга с использованием МРТ (например, оценка T1-взвешенных контрастируемых гадолинием (Gd) поражений и T2-гиперинтенсивных поражений с помощью магнитно-резонансной томографии).

[232] Комбинации доставки HuPTM mAb к интегрину или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, печень или мышцы, сопровождаемые доставкой других доступных

способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения IBD, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, аминосалицилаты, кортикостероиды и иммуномодуляторы (например, азатиоприн, 6-меркаптопурин и/или метотрексат) и введение с антиинтегриновыми средствами, включая в себя, без ограничения, ведолизумаб или натализумаб. Доступные способы лечения рассеянного склероза, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, интерферон бета, интерферон бета 1а, глатирамера ацетат, циклофосфамид, кортикостероиды, иммуномодуляторы (например, азатиоприн, 6-меркаптопурин и/или метотрексат), и митоксантрон и введение с антиинтегриновыми средствами, включая в себя, без ограничения, натализумаб.

5.3.6 HuPTM mAb к PCSK9 и к ANGPTL3

[233] Описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с пропротеинконвертазой субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9), полученной из анти-PCSK9 или ангиопоэтин-подобного 3 (ANGPTL3), показанных для лечения гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (HeFH), гомозиготной семейной гиперхолестеринемии (HoFH) или атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (ACD), снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C), уровней триглицеридов (TG) и/или общего холестерина и/или уменьшение или замедление образования атеросклеротических бляшек. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью алирокумаба, эволокумаба, эвинакумаба или антигенсвязывающего фрагмента одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов алирокумаба, эволокумаба и эвинакумаба представлены на фиг. 5A-5C, соответственно. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей связывающий PCSK9 или HuPTM mAb к ANGPTL3 (или антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов HeFH, HoFH или ACD; аномально высокими уровнями LDL-C, TG и/или TC или аномальной атеросклеротической бляшки, чтобы создать постоянное депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[234] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с PCSK9 или ANGPTL3, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с PCSK9 или ANGPTL3, такого как алирокумаб, эволокумаб, эвинакумаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-PCSK9 или анти-ANGPTL3 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[235] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части алирокумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 21 и 22, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 5A). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 121 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи алирокумаба) и SEQ ID NO: 122 (кодирующие Fab-часть легкой цепи алирокумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[236] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-PCSK9 антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 21 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательность KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в

частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 5A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 21 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[237] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген PCSK9 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 22. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген PCSK9 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 21. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 22, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 21. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген PCSK9 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген PCSK9 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в

каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[238] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab алирокумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 21 и 22, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L113N (тяжелая цепь), Q166N или Q166S (легкая цепь) и/или E201N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[239] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR алирокумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи на фиг. 5A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к PCSK9 или его антигенсвязывающего фрагмента.

[240] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части эволокумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 23 и 24, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 5B). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 123 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи эволокумаба) и SEQ ID NO: 124 (кодирующие Fab-часть легкой цепи эволокумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[241] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-PCSK9 антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 23 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевой глутаминовой кислоты (Е), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 5В. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 23 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[242] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген PCSK9 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 24. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген PCSK9 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 23. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 24, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 23. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген PCSK9 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях,

которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген PCSK9 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[243] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab эволокумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 23 и 24, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T110N (тяжелая цепь) и/или Q197N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[244] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PCSK9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR эволокумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи на фиг. 5B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к PCSK9 или его антигенсвязывающего фрагмента.

[245] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-ANGPTL3 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие вариабельные домены тяжелой и легкой цепей эвинакумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25 и 26, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 5C). Они могут быть слиты с константным доменом C1 тяжелой цепи и/или константным доменом легкой цепи с образованием фрагмента Fab. Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 25 (кодирующие вариабельный домен тяжелой цепи эвинакумаба) и SEQ ID NO: 26 (кодирующие вариабельный домен легкой цепи эвинакумаба), как представлено в таблице

5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[246] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-ANGPTL3 антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 25 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHT CPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) и, в частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 5С. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 25 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[247] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-ANGPTL3 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген ANGPTL3 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 26. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-ANGPTL3 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген ANGPTL3 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 25. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-ANGPTL3 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96% , 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 26, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или на 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 25. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген ANGPTL3 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25 с 1, 2, 3, 4, 5 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген ANGPTL3 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[248] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-ANGPTL3 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab эвинакумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 25 и 26, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: M121N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[249] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-ANGPTL3 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR эвинакумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 5C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к ANGPTL3 или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[250] Представлены способы лечения субъектов от HeFH, HoFH или ADC путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий mAb к PCSK9 или к ANGPTL3 или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой алирокумаб, эволокумаб или эвинакумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента было диагностировано заболевание HeFH, HoFH или ADC и/или у него имеются симптомы, связанные с HeFH, HoFH или ADC. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 5A-5C, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[251] Субъектами, которым вводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-PCSK9 или анти-ANGPTL3 терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы предусматривают лечение пациентов, у которых был диагностирован HeFH, HoFH или ADC или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к PCSK9 или к ANGPTL3, или считаются хорошими кандидатами на терапию антителом к PCSK9 или к ANGPTL3. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению алирокумабом, эволокумабом или эвинакумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к алирокумабу, эволокумабу или эвинакумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к PCSK9 или к ANGPTL3 или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[252] Получение HuPTM mAb к PCSK9 или к ANGPTL3 или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения HeFH, HoFH или ADC с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к PCSK9 или к ANGPTL3, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов HeFH, HoFH или ADC, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например,

гликозилированный человеком, сульфатированный трансгенный продукт, производимый трансдуцированными клетками печени или мышц.

[253] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к PCSK9 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи алирокумаба, как показано на фиг. 5A (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N30, N59 и/или N160 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 21) или N22, N35, Q106, N164 и/или N216 легкой цепи (SEQ ID NO: 22). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи алирокумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 21) и/или Y92 и/или Y93 легкой цепи (SEQ ID NO: 22). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к PCSK9 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[254] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к PCSK9 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей эволокумаба, как показано на фиг. 5B (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q107 и/или N157, и/или N190, и/или N199 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 23), или N71 и/или N173 легкой цепи (SEQ ID NO: 24). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи эволокумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 23) и/или Y88 и/или Y89 легкой цепи (SEQ ID NO: 24). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к PCSK9 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[255] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к ANGPTL3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей эвинакумаба, как показано на

фиг. 5C (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77, Q118 и/или N168 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 25) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 26). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи эвинакумаба содержит группу сульфатирования в Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 25) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 26). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к PCSK9 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[256] Согласно некоторым вариантам осуществления mAb HuPTM или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель представленного в настоящем документе лечения генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование HeFH, HoFH или ADC и/или снизить уровни липопротеина низкой плотности (LDL-C). Эффективность может контролироваться путем мониторинга уровней LDL-C. Например, эффективность можно отслеживать, оценивая среднее процентное изменение LDL-C по сравнению с исходным уровнем.

[257] Комбинации доставки HuPTM mAb к PCSK9 или к ANGPTL3 или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцу, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения HeFH, HoFH или ACD, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, диету, статины, эзетимиб и аферез LDL, а также введение с анти-PCSK9 или анти-ANGPTL3 средствами, включая в себя, без ограничения, алирокумаб, эволокумаб или эвинакумаб.

5.3.7 HuPTM mAb к OxPL

[258] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с окисленными фосфолипидами (OxPL), указанных для лечения и/или уменьшения и/или замедления сердечно-сосудистых заболеваний, включая в себя атеросклеротическое

сердечно-сосудистое заболевание (ACD), образование атеросклеротических бляшек, аномально высокий уровень не-HDL холестерина и LDL, аортальный стеноз, стеноз печени или гиперхолестеринемию. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью E06-scFv или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотные последовательности E06-scFv представлены на фиг. 5D. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей OxPL-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов сердечно-сосудистого заболевания, ACD, гиперхолестеринемии, аномально высоких уровней не-HDL холестерина и/или LDL, аортального стеноза, стеноза печени и/или аномальной атеросклеротической бляшки для создания постоянного депо, которое постоянно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный человеком, трансгенный продукт.

Трансгены

[259] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с OxPL, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с OxPL, такого как E06-scFv или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-OxPL антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[260] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-OxPL антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие вариабельные домены тяжелой и легкой цепей E06-scFv (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 59 и 60, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 5D). E06-scFv представляет собой молекулу scFv и, таким образом, содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей mAb к OxPL, соединенные гибким линкером. Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 159 (кодирующие вариабельный домен тяжелой цепи E06-scFv) и SEQ ID NO: 160 (кодирующие вариабельный домен легкой цепи

E06-scFv), как указано в таблице 5. E06 представляет собой scFv, и, таким образом, scFv экспрессируется в виде одной белковой цепи с линкером между легкой и тяжелой цепями. ScFv содержит лидерную последовательность на N-конце для соответствующей экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (таких как гепатоциты) или мышечных клетках человека. Согласно другим вариантам осуществления, где тяжелая и легкая цепи экспрессируются в виде отдельных белков, обе содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[261] В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепи трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена легкой цепи гибкий пептидный линкер. Последовательность гибкого пептидного линкера может содержать гибкие остатки, такие как глицин (G) или серин (S). Согласно некоторым вариантам осуществления гибкий пептидный линкер может содержать 10-30 остатков или G, S, или и G, и S. Заряженные остатки, такие как E и K, могут использоваться и перемежаться для повышения растворимости. Последовательность гибкого пептидного линкера может характеризоваться аминокислотной последовательностью $(GGGGS)_n$, где n может представлять собой 1, 2, 3, 4, 5 или 6 (SEQ ID NO: 243). В этом случае сигнальная последовательность сливается с N-концом scFv последовательности вариабельного домена тяжелой или легкой цепи, в зависимости от обстоятельств.

[262] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-OxPL антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген OxPL фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 60. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-OxPL антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген OxPL фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 59. Согласно определенным вариантам

осуществления трансген анти-OxPL антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 60, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 59. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген OxPL фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5D) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген OxPL фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5D) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[263] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-OxPL антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab E06-scFv, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 59 и 60, соответственно, с необязательно мутацией T118N (тяжелая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[264] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-OxPL антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR E06-scFv, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 5D, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для

образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к OxPL или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[265] Представлены способы лечения субъектов-людей от сердечно-сосудистых заболеваний, ACD, гиперхолестеринемии, аномально высоких уровней не-HDL холестерина и/или LDL, аортального стеноза, стеноза печени и/или аномальной атеросклеротической бляшки путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий mAb к OxPL или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой E06-scFv и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента диагностировано и/или имеются симптомы, связанные с сердечно-сосудистым заболеванием, ACD, гиперхолестеринемией, аномально высоким уровнем не-HDL холестерина и/или LDL, аортального стеноза, стенозом печени и/или аномальной атеросклеротической бляшкой. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 5D, можно вводить любым способом, так что рекомбинантный вектор входит в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[266] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-OxPL терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы предусматривают лечение пациентов, у которых диагностированы сердечно-сосудистые заболевания, ACD, гиперхолестеринемия, аномально высокие уровни не-HDL холестерина и/или LDL, аортальный стеноз, стеноз печени и/или аномальная атеросклеротическая бляшка или у них имеется один или более связанных с ними симптомов, и они идентифицированы как отвечающие на лечение антителом к OxPL или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к OxPL. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению E06-scFv или E06, и было обнаружено, что они отвечают на E06-scFv или E06. Чтобы определить чувствительность, трансгенный продукт антитела к OxPL или антигенсвязывающего фрагмента (например, произведенного в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[267] Производство HuPTM mAb к OxPL или HuPTM Fab должно приводить к образованию «биологически улучшенной» молекулы для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, ACD, гиперхолестеринемии, аномально высоких уровней не-HDL холестерина и/или LDL, аортального стеноза, стеноза печени и/или аномальной атеросклеротической бляшки, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к OxPL, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов сердечно-сосудистых заболеваний, ACD, гиперхолестеринемии, аномально высоких уровней не-HDL холестерина и/или LDL, аортального стеноз, стеноза печени и/или аномальной атеросклеротической бляшки, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, который непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный человеком, сульфатированный трансгенный продукт, производимый трансдуцированными клетками печени или мышц.

[268] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к OxPL или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи E06-scFv, как показано на фиг. 5D (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N53 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 59). Альтернативно или в дополнение HuPTM scFv или другой его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи E06-scFv содержит группу сульфатирования в Y58 и/или Y62, и/или Y96, и/или Y97 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 59) и/или Y42 легкой цепи (SEQ ID NO: 60). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к OxPL или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[269] Согласно некоторым вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab scFv является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы лечить, замедлять и/или останавливать прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний, ACD, гиперхолестеринемии, аномально высоких уровней не-HDL холестерина и/или LDL,

аортального стеноза, стеноза печени и/или аномальной атеросклеротической бляшки. Эффективность может контролироваться путем мониторинга уровней LDL, маркеров воспаления или изменений в степени аортального стеноза, таких как мониторинг изменений в области аортального клапана, пиковых и средних трансклапанных градиентов и/или максимальной скорости в аорте. Например, эффективность можно отслеживать, оценивая среднее процентное изменение LDL по сравнению с исходным уровнем.

[270] Комбинации доставки HuPTM mAb к OxPL или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцу, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения сердечно-сосудистых заболеваний, ACD, гиперхолестеринемии, аномально высоких уровней не-HDL холестерина и/или LDL, аортального стеноза, стеноза печени и/или аномальной атеросклеротической бляшки, которые могут сочетаться с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, диету, статины, эзетимиб и аферез LDL, а также применение анти-OxPL средств, включая в себя, без ограничения, E06-scFv.

5.3.8. Анти-RANKL HuPTM конструкции и составы при остеопорозе

[271] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с активатором рецептора лиганда ядерного фактора каппа-B (RANKL), полученного из антитела к RANKL, такого как деносумаб (фиг. 6), и показаны для лечения остеопороза или аномальной потери костной массы или слабости кости (например, лечения гигантоклеточной опухоли кости, лечения вызванной воздействием лекарственных средств потери костной ткани, замедления потери (или увеличения) костной массы при раке молочной железы и простаты пациентов, предотвращения связанных со скелетом событий из-за метастазирования кости или для уменьшения резорбции и ремоделирования кости. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью деносумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность фрагмента Fab этого антитела показана на фиг.6. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей RANKL-связывающее HuPTM mAb (или антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям), у которых диагностирован остеопороз или наблюдается потеря костной массы, для

создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[272] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с RANKL, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента у пациента. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с RANKL, такого как деносумаб или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-RANKL антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[273] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-RANKL антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части деносумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 27 и 28, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 6). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 127 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи деносумаба) и SEQ ID NO: 128 (кодирующие Fab-часть легкой цепи деносумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[274] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-RANKL антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 27 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть

аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 6. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 27 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[275] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-RANKL антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген RANKL фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 28. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-RANKL антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген RANKL фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 27. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-RANKL антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 28, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 27. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген RANKL фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 6) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген RANKL фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами,

вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 6) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[276] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-RANKL антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab денабумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 27 и 28, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L117N (тяжелая цепь), Q161N или Q161S (легкая цепь) и/или E196N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[277] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-RANKL антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR деносумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 6, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к RANKL или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[278] Представлены способы лечения людей от остеопороза или аномальной потери костной массы (например, у пациентов с раком молочной железы или простаты или из-за метастазов в кости) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к RANKL или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой деносумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с остеопорозом или аномальной потерей костной массы. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантный вектор, такой как показан на фиг. 6, может быть введен любым способом, так что рекомбинантный вектор входит в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[279] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-RANKL терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был диагностирован остеопороз или аномальная потеря костной массы или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к RANKL или считающиеся хорошими кандидатами для терапии с помощью антитела к RANKL. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению деносумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к деносумабу. Чтобы определить чувствительность, трансгенный продукт антитела к RANKL или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[280] Производство HuPTM mAb к RANKL или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения остеопороза или потери костной массы, осуществляемой с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к RANKL, внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов остеопороза или потери костной массы, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками печени или мышц.

[281] Конструкция кДНК для HuPTMmAb к RANKL или анти-RANKL HuPTM Fab должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени или мышц. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[282] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к RANKL или HuPTM Fab могут производиться в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом

остеопороз или потеря костной массы, или тем, для кого терапия остеопороза или потери костной массы считается целесообразной.

[283] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к RANKL или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей деносумаба, как показано на фиг. 6 (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуются гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77 и/или N164 и/или Q114 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 27) или N159 и/или N211 и/или Q101 легкой цепи (SEQ ID NO: 28). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи деносумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 27) и/или Y88 легкой цепи (SEQ ID NO: 28). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к RANKL или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[284] Согласно некоторым вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование остеопороза или потери костной массы. Эффективность может контролироваться путем оценки костной ткани или скелетных событий или отсутствия скелетных событий. Например, что касается остеопороза, эффективность можно контролировать с помощью оценки содержания минеральных веществ в кости, оценки рентгенограмм при переломах позвонков или диагностической визуализации для подтверждения клинических переломов.

[285] Комбинации доставки HuPTM mAb к RANKL или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцы, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения остеопороза или потери костной массы, которые могут сочетаться с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, бисфосфонаты (например, золедроновую кислоту),

гормон паращитовидной железы (например, терипаратид [PTH 1–34] и/или полноразмерный PTH 1–84), кальций, витамин D и химиотерапию, криотерапию или лучевую терапию у пациентов с диагнозом рак, а также прием анти-RANKL средств, включая в себя, без ограничения, деносумаб.

5.3.9 HuPTM конструкции и составы блокаторы PD при раке и лимфоме

[286] Описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с белком запрограммированной смерти клетки 1 (PD-1), лигандом 1 запрограммированной смерти (PD-L1) или лигандом 2 запрограммированной смерти (PD-L2), полученным из блокаторов PD-1 (например, анти-PD-1, анти-PD-L1 или анти-PD-L2), показанные для лечения неоперабельной/метастатической меланомы, лимфом (например, лимфомы Ходжкина) и карцином (например, почечно-клеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы и немелкоклеточной карциномы легких). Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью ниволумаба, пембролизумаба или антигенсвязывающего фрагмента одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов ниволумаба и пембролизумаба представлены на фиг. 7A и 7B, соответственно. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей связывающее PD-1/PD-L1/PD-L2 HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов меланомы, карцином или лимфом, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[287] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с PD-1/PD-L1/PD-L2, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с PD-1/PD-L1/PD-L2, такого как ниволумаб, пембролизумаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген также может кодировать анти-PD-1, анти-PD-L1 или анти-PD-L2 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[288] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части ниволумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 29 и 30, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 7A). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 129 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи ниволумаба) и SEQ ID NO: 130 (кодирующие Fab-часть легкой цепи ниволумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[289] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 29 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого тирозина (Y), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности GPPCPPCPAPEFLG (SEQ ID NO: 240) и, в частности, GPPCPPCPA (SEQ ID NO: 229) или GPPCPPCPAPEFLGPSVFL (SEQ ID NO: 241), как показано на фиг. 7A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 29 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[290] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген PD-1 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 30. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген PD-1 фрагмент, содержащий тяжелую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 30, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 29. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген PD-1 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 7A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген PD-1 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 7A) или представляют собой замены на аминокислоты, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[291] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab ниволумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 29 и 30, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L108N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[292] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ниволумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг.

7A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента.

[293] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части пембролизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 31 и 32, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 7B). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 131 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи пембролизумаба) и SEQ ID NO: 132 (кодирующие Fab-часть легкой цепи пембролизумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[294] В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 31 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого тирозина (Y), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности GPPCPPCPAPEFLG (SEQ ID NO: 240) и, в частности, GPPCPPCPA (SEQ ID NO: 229) или GPPCPPCPAPEFLGPSVFL (SEQ ID NO: 241), как показано на фиг. 7B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3’-конце SEQ ID NO: 31 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[295] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент PD-1,

содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 32. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент PD-1, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 31. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 32, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 31. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген PD-1 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 7B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген PD-1 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 7B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[296] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab пембролизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь из SEQ ID NO: 31 и 32, соответственно, с одной

или более из следующих мутации: T115N (тяжелая цепь), Q164N или Q164S (легкая цепь) и/или E199N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[297] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-PD-1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR пембролизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 7B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[298] Представлены способы лечения меланом, карцином или лимфом у субъектов-людей путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий один или более из антител к PD-1, к PD-L1 и к PD-L2 или его антигенсвязывающий фрагмент. В частности, предложены способы лечения метастатической меланомы, лимфомы, немелкоклеточной карциномы легкого, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, карциномы уротелия, рака с высокой микросателлитной нестабильностью, рака желудка, почечно-клеточной карциномы, метастатического рака толстой кишки с дефицитом репарации неспаренных оснований или гепатоцеллюлярной карциномы путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий одно или более антител к PD-1, к PD-L1 и к PD-L2 или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой ниволумаб и пембролизумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента было диагностировано заболевание и/или имеются симптомы, связанные с меланомой, карциномой или лимфомой. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 7A и 7B, могут быть введены любым способом, так что рекомбинантный вектор входит в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[299] Субъектами, которым вводят такую генную терапию, могут быть пациенты, отвечающие на анти-PD-1, анти-PD-L1 или анти-PD-L2 терапию. Согласно конкретным

вариантам осуществления способы предусматривают лечение пациентов, у которых диагностирована меланома, карцинома или лимфома или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к PD-1, к PD-L1 или к PD-L2 или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к PD-1, к PD-L1 или к PD-L2. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению ниволумабом или пембролизумабом, и было обнаружено, что они отвечают на ниволумаб или пембролизумаб. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к PD-1, к PD-L1 или к PD-L2 или антигенсвязывающего фрагмента (например, полученный в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[300] Производство HuPTM mAb к PD-1, к PD-L1 и/или к PD-L2 или HuPTM Fab должно приводить к образованию «биологически улучшенной» молекулы для лечения меланомы, карцином или лимфом, осуществляемые с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к PD-1, к PD-L1 и/или к PD-L2, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов меланомы, карцином, лимфом или других видов рака, чтобы создать постоянное депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками печени или мышц.

[301] Конструкции кДНК для HuPTMmAb или HuPTM Fab должны включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени или мышц. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[302] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к PD-1, к PD-L1 или к PD-L2 или HuPTM Fab могут быть получены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и введены пациентам с диагнозом метастатическая меланома, лимфома, немелкоклеточная карцинома

легкого, плоскоклеточная карцинома головы и шеи, карцинома уротелия, рак с высокой микросателлитной нестабильностью, рак желудка, почечно-клеточная карцинома, метастатический рак толстой кишки с дефицитом репарации неспаренных оснований или гепатоцеллюлярная карцинома, или тем, для кого терапия метастатической меланомы, лимфомы, немелкоклеточной карциномы легкого, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, карциномы уротелия, рака с высокой микросателлитной нестабильностью, рака желудка, почечно-клеточной карциномы, метастатического рака толстой кишки с дефицитом репарации неспаренных оснований или гепатоцеллюлярной карциномы считается целесообразной.

[303] Согласно конкретным вариантам осуществления mAb к PD-1 HuPTM или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи ниволумаба, как показано на фиг. 7A (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77, Q105 и/или N155 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 29) или N93, Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 30). Альтернативно или в дополнение mAb HuPTM или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи ниволумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 29) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 30). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[304] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей пембролизумаба, как показано на фиг. 7B (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q112, N162 и/или N204 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 31) или N162 и/или N214 легкой цепи (SEQ ID NO: 32). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи пембролизумаба характеризуется наличием

группы сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 31) и/или Y90 и/или Y91 легкой цепи (SEQ ID NO: 32). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[305] Согласно некоторым вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование метастатической меланомы, лимфомы, немелкоклеточной карциномы легкого, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, карциномы уротелия, рака с высокой микросателлитной нестабильностью, рака желудка, почечно-клеточной карциномы, метастатического рака толстой кишки с дефицитом репарации неспаренных оснований или гепатоцеллюлярной карциномы. Эффективность может контролироваться по одной или более конечным точкам онкологии, включая в себя общую выживаемость, выживаемость без прогрессирования, время до прогрессирования, время до констатации отсутствия эффекта лечения, бессобытийную выживаемость, время до назначения следующего лечения, частоту объективных ответов или продолжительность ответа (смотрите, например, Министерство здравоохранения и социальных служб США, Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств, Центр по оценке и исследованию биологических препаратов. Руководство для промышленности: конечные точки клинических испытаний для одобрения лекарственных средств и препаратов для лечения рака. https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm071590.pdf. Published May 2007. Accessed October 13, 2017; Oncology Endpoints in a Changing Landscape. Manag. Care. 2016; 1(suppl):1-12).

[306] Комбинации доставки одного или более HuPTM mAb к PD-1, к PD-L1 и к PD-L2 или их антигенсвязывающих фрагментов в печень или мышцу, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения метастатической меланомы, лимфомы, немелкоклеточной карциномы легкого, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, карциномы уротелия, рака с высокой микросателлитной нестабильностью, рака желудка, почечно-клеточной карциномы, метастатического рака толстой кишки с дефицитом репарации неспаренных оснований или гепатоцеллюлярной карциномы, которые могут быть объединены с представленной в

настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, химиотерапию (например, цисплатин, гемцитабин, пеметрексед, карбоплатин и/или паклитаксел), лучевую терапию, криотерапию, целевые низкомолекулярные терапии, другие антитела, а также вакцинную терапию и введение с одним или более анти-PD-1, анти-PD-L1 и анти-PD-L2 средствами, включая в себя, помимо прочего, ниволумаб и пембролизумаб.

5.3.10 Анти-VEGF или анти-fD HuPTM конструкции и составы при заболеваниях глаз

[307] Описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и его антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) или комплементом (например, фактором D (fD)), полученным из анти-VEGF или анти-комплемент (например, анти-fD), соответственно, показанных для лечения одного или более заболеваний сетчатки, включая в себя диабетическую ретинопатию, миопическую хориоидальную неоваскуляризацию (mCNV), макулярную дегенерацию (например, неоваскулярную (влажную) возрастную макулярную дегенерацию (AMD)), макулярный отек (например, макулярный отек после окклюзии вен сетчатки (RVO) или диабетический макулярный отек (DME)); для подавления ангиогенеза; или, в случае, если они получены из анти-VEGF, для лечения одного или более типов рака, включая в себя рак эпителия яичников, рак маточной трубы, рак брюшной полости, рак шейки матки, метастатический колоректальный рак, метастатический HER2-негативный рак молочной железы, метастатическую почечно-клеточную карциному, глиобластому, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC). Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью ранибизумаба, бевацизумаба, лампализумаба, бролуцизумаба или антигенсвязывающего фрагмента одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов ранибизумаба, бевацизумаба и лампализумаба и scFv бролуцизумаба представлены на фиг. 8A-8D, соответственно. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей связывающее VEGF или фактор D HuAPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное, включая в себя scFv) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов нарушения сетчатки (например, диабетическая ретинопатия, mCNV, макулярная дегенерация или макулярный отек) или рак (например, рак эпителия яичников, рак маточной трубы, рак брюшной полости, рак шейки матки, метастатический колоректальный рак, метастатический HER2-негативный рак молочной железы, метастатическая почечно-клеточная карцинома, глиобластома или NSCLC) для

создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный человеком, трансгенный продукт.

[308] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с VEGF или fD, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, связывающегося с VEGF или fD, такого как ранибизумаб, бевацизумаб, лампализумаб, бролуцизумаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-VEGF или анти-fD антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[309] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части ранибизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 33 и 34, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 8A). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 133 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи ранибизумаба) и SEQ ID NO: 134 (кодирующие Fab-часть легкой цепи ранибизумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности одной или более клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 1, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или более клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может быть подходящей для экспрессии в клетках мышц или печени, таких как перечисленные в таблицах 2 и 3 ниже.

[310] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-VEGF антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 33 с дополнительной последовательностью шарнирной области,

начинающейся после С-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 8А. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 33 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[311] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген VEGF фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 34. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген VEGF фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 33. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 34, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 33. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген VEGF фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8А) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11А. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген VEGF фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ

ID NO: 34 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[312] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab ранибизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь из SEQ ID NO: 33 и 34, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L118N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[313] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ранибизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 8A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к VEGF или его антигенсвязывающего фрагмента.

[314] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части бевацизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35 и 36, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 8B). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 135 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи бевацизумаба) и SEQ ID NO: 136 (кодирующие Fab-часть легкой цепи бевацизумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, одного или более типов клеток сетчатки или клеток печени. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей,

указанных в таблице 1 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым клетками сетчатки или клетками печени, соответственно.

[315] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 35 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 8B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 35 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[316] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген VEGF фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89% , 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 36. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген VEGF фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 35. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 36, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 35. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген VEGF фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,

14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген VEGF фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[317] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab бевацизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 35 и 36, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L118N (тяжелая цепь) и/или Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[318] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR бевацизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 8B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к VEGF или его антигенсвязывающего фрагмента.

[319] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-fD антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части лампализумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 37 и 38, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 8C). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 137 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи лампализумаба) и SEQ ID NO: 138 (кодирующие Fab-часть легкой цепи лампализумаба), как указано в

таблице 5. Обе последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности одной или более клетках человека, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 1, которые соответствуют белкам, секретируемым клетками, образующими сетчатку.

[320] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 37 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть аминокислоты последовательность KTHT CPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) и, в частности, KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 8С. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 37 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[321] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-fD антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген fD фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 38. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-fD антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген fD фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 37. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-fD антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 38, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 37. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген fD фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген fD фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[322] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-fD антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab лампализумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь из SEQ ID NO: 37 и 38, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L110N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[323] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-fD антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR лампализумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 8C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела fD или его антигенсвязывающего фрагмента.

[324] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие вариабельные домены тяжелой и легкой цепей бролуцизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 39 и 40, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 8D). Бролуцизумаб представляет собой молекулу scFv и, таким образом, содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей mAb к VEGF, соединенные гибким линкером. Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 139 (кодирующие часть вариабельного домена тяжелой цепи бролуцизумаба) и SEQ ID NO: 142 (кодирующие часть вариабельного домена легкой цепи бролуцизумаба), как указано в таблице 5. Даже вариабельные домены тяжелой и легкой цепи экспрессируются в виде отдельных белков, каждая из последовательностей тяжелой и легкой цепи имеет сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или более клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 1, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или более клетками, образующими сетчатку.

[325] В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена легкой цепи гибкий пептидный линкер. Последовательность гибкого пептидного линкера может содержать гибкие остатки, такие как глицин (G) или серин (S). Согласно некоторым вариантам осуществления гибкий пептидный линкер может содержать 10-30 остатков или G, S, или и G, и S. Заряженные остатки, такие как E и K, могут использоваться и перемежаться для повышения растворимости. Последовательность гибкого пептидного линкера может характеризоваться аминокислотной последовательностью $(GGGGS)_n$, где n может быть 1, 2, 3, 4, 5 или 6 (SEQ ID NO: 243). В этом случае сигнальная последовательность сливается с N-концом scFv, последовательности вариабельного домена тяжелой или легкой цепи, в зависимости от обстоятельств.

[326] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген VEGF фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,

98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 40. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген VEGF фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 39. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 40, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 39. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген VEGF фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8D) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген VEGF фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8D) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[327] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный scFv бролуцизумаба, содержащий одну цепь SEQ ID NO: 39 и 40, соответственно, со следующей мутацией: L115N (тяжелая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь).

[328] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит

нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR бролуцизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях одноцепочечного вариабельного домена на фиг. 8D, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к VEGF или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[329] Представлены способы лечения субъектов-людей с одним или более заболеваниями сетчатки (такими как диабетическая ретинопатия, mCNV, макулярная дегенерация или макулярный отек) или раком (таким как рак эпителия яичников, рак маточной трубы, рак брюшной полости, рак шейки матки, метастатический колоректальный рак, метастатический HER2-негативный рак молочной железы, метастатическая почечно-клеточная карцинома, глиобластома или NSCLC) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к VEGF или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело или его Fab-фрагмент может представлять собой ранибизумаб, бевацизумаб или бролуцизумаб. Согласно вариантам осуществления у пациента диагностирован и/или имеются симптомы, связанные с одним или более из различных заболеваний сетчатки или видов рака, перечисленных выше.

[330] Также представлены способы лечения субъектов-людей от одного или более заболеваний сетчатки (таких как диабетическая ретинопатия, mCNV, макулярная дегенерация или макулярный отек) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к fD или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой лампализумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента было диагностировано заболевание и/или имеются симптомы, связанные с одним или более из различных заболеваний сетчатки, перечисленных выше.

[331] Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.3. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам типа сетчатки человека и могут включать в себя нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8. Альтернативно, векторы, содержащие капсид AAV.7m8, могут быть использованы для глазных показаний. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 8A-8D, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в сетчатку, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Смотрите Раздел 5.5.3 для получения подробной информации о способах лечения. Например, для доставки в

печень для лечения рака рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 8A-8C, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[332] Субъектами, которым вводят такую генную терапию, могут быть субъекты, отвечающие на анти-VEGF или анти-fD терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых было диагностировано одно или более нарушений сетчатки или типов рака или у которых есть один или более симптомов, связанных с ними, и которые определены как отвечающие на лечение антителом к VEGF или антителом к fD или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к VEGF или антителом к fD. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению ранибизумабом, бевацизумабом, лампализумабом или бролуцизумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к ранибизумабу, бевацизумабу, лампализумабу или бролуцизумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к VEGF или к fD или антигенсвязывающего фрагмента (например, полученный в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[333] Производство HuPTM mAb к VEGF или к fD или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или более заболеваний сетчатки глаза или рака, осуществляемых с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-VEGF или анти-fD HuPTM Fab, субретинально, интравитреально или супрахориоидально субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов одного или более нарушений сетчатки или путем введения вирусного вектор или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-VEGF HuPTM Fab, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом рак, чтобы создать постоянное депо в сетчатке или печени, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками сетчатки или печени.

[334] В качестве альтернативы или дополнительного лечения генной терапии HuPTM mAb к VEGF или к fD или HuPTM Fab могут быть получены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом заболевания сетчатки или рак, для которого терапия нарушения сетчатки или рака считается подходящей.

[335] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к VEGF или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей ранибизумаба, как показано на фиг. 8A (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q115 и/или N165 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 33) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 34). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи ранибизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 33) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 34). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к VEGF или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[336] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к VEGF или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей бевацизумаба, как показано на фиг. 8B (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q115 и/или N165 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 35) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 36). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи бевацизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 35) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 36). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к VEGF или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[337] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к fD или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей лампализумаба, как показано на фиг. 8C (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q107 и/или N157 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 37) или Q100 и/или N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 38). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепей лампализумаба содержит группу сульфатирования в Y60 и/или Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 37) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 38). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к fD или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[338] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к VEGF или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей бролуцизумаба, как показано на фиг. 8D (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайты гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениях N77 и/или Q112 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 39) или N97 и/или Q103 легкой цепи (SEQ ID NO: 40). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепей бролуцизумаба содержит группу сульфатирования в Y32 и/или Y33, и/или Y34, и/или Y59, и/или Y60, и/или Y94, и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 39) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 40). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к VEGF или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[339] Согласно некоторым вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения предлагаемой в настоящем документе

генной терапии заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование заболевания сетчатки или типа рака и/или подавить ангиогенез. В случае нарушений сетчатки, эффективность может контролироваться путем наблюдения за остротой зрения. Например, эффективность можно контролировать, оценивая изменение остроты зрения по сравнению с исходным уровнем. В случае рака эффективность можно контролировать путем оценки одной или более онкологических конечных точек, включая в себя выживаемость, выживаемость без прогрессирования, время до прогрессирования, время до констатации отсутствия эффекта лечения, бессобытийную выживаемость, время до назначения следующего лечения, частоту объективных ответов или продолжительность ответа (смотрите, например, Министерство здравоохранения и социальных служб США, Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств, Центр по оценке и исследованию биологических препаратов. Руководство для промышленности: конечные точки клинических испытаний для одобрения лекарственных средств и препаратов для лечения рака. https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm071590.pdf. Published May 2007. Accessed October 13, 2017; Oncology Endpoints in a Changing Landscape. Manag. Care. 2016; 1(suppl):1-12).

[340] Комбинации доставки HuPTM mAb к VEGF или к fD или его антигенсвязывающего фрагмента в сетчатку или печень, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения диабетической ретинопатии, mCNV, макулярной дегенерации или макулярного отека, которые могут сочетаться с генной терапией, представленной в настоящем документе, включают в себя, без ограничения, лазерную фотокоагуляцию, фотодинамическую терапию вертепорфином, афлиберцептом и/или интравитреальными стероидами и введение анти-VEGF или анти-fD средства, включая в себя, без ограничения, ранибизумаб, бевацизумаб, лампализумаб или бролуцизумаб. Доступные способы лечения рака эпителия яичников, рака маточной трубы, рака брюшной полости, рака шейки матки, метастатического колоректального рака, метастатического HER2-негативного рака молочной железы, метастатической почечно-клеточной карциномы, глиобластомы или NSCLC, которые могут сочетаться с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, химиотерапию (например, цисплатин, гемцитабин, пеметрексед, 5-фторурацил, карбоплатин, иринотекан, интерферон альфа, оксалиплатин, пегилированный паклитаксел липосомальный доксорубицин и/или топотекан), химиотерапевтические

защитные лекарственные средства (например, лейковорин), лучевую терапию, криотерапию, таргетную низкомолекулярную терапию, другие антитела, афилберцепт и/или вакцинную терапию и введение анти-VEGF, включая в себя, без ограничения, ранибизумаб или бевацизумаб.

5.3.11. Анти-BLyS HuPTM конструкции и составы при системной красной волчанке

[341] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются со стимулятором В-лимфоцитов (BLyS), полученным из антитела к BLyS, такого как белимумаб (фиг. 8E) и показаны для лечения системной красной волчанки (SLE) и снижения уровней аутореактивных В-клеток и клеток, производящих иммуноглобулин в плазме. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью белимумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагмента этого антитела представлена на фиг. 8E. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей BLyS-связывающее mAb HuPTM (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом SLE для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[342] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с BLyS, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с BLyS, такого как белимумаб или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-BLyS антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[343] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-BLyS антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части белимумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 41 и 42, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 8E).

Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 141 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи белимумаба) и SEQ ID NO: 142 (кодирующие Fab-часть легкой цепи белимумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[344] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-BLyS антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 41 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 8E. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 41 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[345] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-BLyS антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент BLyS, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 42. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-BLyS антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент BLyS, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична

последовательности, представленной в SEQ ID NO: 41. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-BLyS антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 42, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 41. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген BLyS фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8E) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген BLyS фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8E) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[346] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-BLyS антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab белимумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 41 и 42, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: M118N (тяжелая цепь) и/или Q196N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[347] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-BLyS антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR белимумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 8E, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы

антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к BLyS или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[348] Представлены способы лечения людей с SLE путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к BLyS или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой белимумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациент была диагностирована SLE и/или у него имеются симптомы, связанные с SLE. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 8E, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[349] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-BLyS терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых диагностирована SLE или у которых один или более симптомов связаны с ней и которые определены как отвечающие на лечение антителом к BLyS или считающиеся хорошими кандидатами для терапии антителом к BLyS. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению белимумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к белимумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к BLyS или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[350] Производство HuPTM mAb к BLyS или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения SLE, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к BLyS, внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов SLE, чтобы создать постоянное депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например,

гликозилированный человеком, сульфатированный трансгенный продукт, производимый трансдуцированными клетками печени или мышц.

[351] Конструкция кДНК для HuPTMmAb к BLyS или HuPTM Fab к BLyS должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени или мышц. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[352] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к BLyS или HuPTM Fab могут быть произведены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом SLE или для которых терапия SLE считается уместной.

[353] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к BLyS или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей белимумаба, как показано на фиг. 8E (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N30 и/или N63 и/или N165 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 41) или N68 и/или N95 легкой цепи (SEQ ID NO: 42). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи белимумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 41) и/или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 42). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к BLyS или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[354] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией состоит в том, чтобы замедлить или остановить

прогрессирование SLE, уменьшить уровни боли или дискомфорта для пациента или уменьшить содержание аутореактивных B-клеток и плазматических клеток, производящих иммуноглобулин. Эффективность может контролироваться путем оценки функции, симптомов или степени воспаления в пораженной ткани или области тела, например, таких как кожа, суставы, почки, легкие, клетки крови, сердце и головной мозг. Например, эффективность может контролироваться путем мониторинга наличия, степени или частоты одного или более симптомов, включая в себя судороги, психоз, органический мозговой синдром, нарушение зрения, другие неврологические проблемы, алопецию, кожную сыпь, мышечную слабость, артрит, воспаление кровеносных сосудов, язвы слизистых, боль в груди, усиливающуюся при глубоком дыхании, и проявления плеврита и/или перикардита и лихорадки. Можно использовать стандартизированные индексы заболеваний, такие как индекс активности системной красной волчанки Национального исследования по оценке безопасности эстрогенов при системной красной волчанке, индекс активности красной волчанки (SELENA-SLEDAI) Британской группы по изучению системной красной волчанки (BILAG) A, BILAG B, показатель активности системной красной волчанки (SLAM) или оценка PGA. (Смотрите, например, Liang MH et al. (1988) “Measurement of systemic lupus erythematosus activity in clinical research,” Arthritis Rheum. 31:817–25; Diaz et al. (2011) “Measures of adult systemic lupus erythematosus: updated version of British Isles Lupus Assessment Group (BILAG 2004), European Consensus Lupus Activity Measurements (ECLAM), Systemic Lupus Activity Measure, Revised (SLAM-R), Systemic Lupus Activity Questionnaire for Population Studies (SLAQ), Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2 K), and Systemic Lupus,” International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index (SDI) Arthritis Care Res. 63:S37–46).

[355] Комбинации доставки HuPTM mAb к BLyS или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцы, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные процедуры могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения SLE, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, кортикостероиды, противомалярийные препараты, NSAID и иммунодепрессанты, а также введение с анти-BLyS средствами, включая в себя, без ограничения, белимумаб.

5.3.12. Анти-CP-C5 HuPTM конструкции и составы при пароксизмальной ночной гемоглобинурии и атипичном гемолитическом уремическом синдроме

[356] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с комплементарным белком C5 (или C5a) (CP-C5), полученным из антитела к CP-C5, такого как экулизумаб (фиг. 8F), и показаны для лечения пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH), лечения атипичного гемолитического уремического синдрома (aHUS), уменьшения разрушения клеток крови и/или уменьшения необходимости переливания крови. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью экулизумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагмента этого антитела представлена на фиг. 8F. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения пациентам вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей CP-C5-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом PNH или aHUS для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[357] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с CP-C5, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с CP-C5, такого как экулизумаб или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-CP-C5 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[358] Согласно некоторым вариантам осуществления трансген анти-CP-C5 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части экулизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 43 и 44, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 8F). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 143 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи экулизумаба) и SEQ ID NO: 144 (кодирующие Fab-часть легкой цепи экулизумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную

последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени человека (например, гепатоцитах). Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 3, которые соответствуют белкам, секретируемым гепатоцитами.

[359] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-CP-C5 антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевой глутаминовой кислоты (E), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности CPPCPAPPVAGG (SEQ ID NO: 232) и, в частности, CPPCPA (SEQ ID NO: 219) или CPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 233), как показано на фиг. 8F. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 43 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[360] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CP-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CP-C5 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 44. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CP-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CP-C5 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 43. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CP-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 44, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности,

представленной в SEQ ID NO: 43. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген CP-C5 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43 с 1, 2, 3, 4, 5 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8F) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген CP-C5 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8F) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[361] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CP-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab экулизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь из SEQ ID NO: 43 и 44, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L117N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[362] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-CP-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR экулизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 8F, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к CP-C5 или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[363] Представлены способы лечения субъектов-людей от PNH или aHUS путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к CP-C5 или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой экулизумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его

антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента было диагностировано заболевание и/или имеются симптомы, связанные с PNH или aHUS. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 8F, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[364] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-CP-C5терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых была диагностирована PNH или aHUS или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к CP-C5 или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к CP-C5. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению экулизумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к экулизумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к CP-C5 или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимого в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[365] Производство HuPTM mAb к CP-C5 или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения PNH или aHUS, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к CP-C5, внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов PNH или aHUS, для создания постоянного депо в ткани печени, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками печени.

[366] Конструкция кДНК для HuPTMmAb к CP-C5 или HuPTM Fab к CP-C5 должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной

последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 3, которые соответствуют белкам, секретируемым гепатоцитами.

[367] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к CP-C5 или HuPTM Fab могут быть получены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом PNH или aHUS или тем, для кого терапия для PNH или aHUS считается целесообразной.

[368] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к CP-C5 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи экулизумаба, как показано на фиг. 8F (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N63 и/или Q114, и/или N164, и/или N197, и/или N206 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 43) или N28 и/или Q100, и/или N158, и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 44). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи экулизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 43) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 44). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к CP-C5 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[369] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапии состоит в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование PNH или aHUS, уменьшить потребность в переливании крови или уменьшить разрушение эритроцитов. Эффективность может контролироваться путем измерения стабилизации гемоглобина и/или количества перелитых единиц эритроцитов или оценки уровня усталости и/или качества жизни, связанного со здоровьем, в течение курса лечения.

[370] Комбинации доставки HuPTM mAb к CP-C5 или его антигенсвязывающего фрагмента в печень, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные

процедуры могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения PNH или aHUS, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, лечение антикоагулянтами и стероидами/иммунодепрессантами и введение анти-CP-C5 средств, включая в себя, без ограничения, экулизумаб.

5.3.13 Анти-MMP9 HuPTM конструкции и составы при глазных нарушениях, муковисцидозе, ревматоидном артрите, воспалительном заболевании кишечника и раке

[371] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с матриксной металлопротеиназой 9 (MMP9), полученной из анти-MMP9, показанной для лечения одного или более заболеваний сетчатки, включая в себя макулярную дегенерацию (например, сухую форму возрастной макулярной дегенерации (AMD)), муковисцидоз (CF), ревматоидный артрит (RA), IBD (например, UC и CD) и один или более типов рака (например, солидные опухоли, аденокарцинома поджелудочной железы, аденокарцинома легкого, плоскоклеточная карцинома легкого, пищеводно-желудочная аденокарцинома, рак желудка, колоректальный рак или рак молочной железы) или для подавления деградации внеклеточного матрикса. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью андекаликсимаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагментов андекаликсимаба представлена на фиг. 8G. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей MMP9-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов нарушения сетчатки (например, макулярной дегенерацией), RA, CF, IBD (например, UC или CD) или одного или более видов рака (таких как перечисленные выше) для создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный человеком, трансгенный продукт.

[372] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с MMP9, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с MMP9, такого как

андекаликсимаб или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-MMP9 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[373] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-MMP9 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части андекаликсимаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 45 и 46, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 8G). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 145 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи андекаликсимаба) и SEQ ID NO: 146 (кодирующие Fab-часть легкой цепи андекаликсимаба), как указано в таблице 5. В случае лечения заболеваний глаз последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, одной или более клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 1, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или более клетками, образующими сетчатку. В случае лечения не глазных заболеваний последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[374] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-MMP9 антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 45 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевой аспарагиновой кислоты (D), содержащей всю или часть

аминокислотной последовательности GPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 231) и, в частности, GPPCPPCPA (SEQ ID NO: 229) или GPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 230), как показано на фиг. 8G. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 45 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[375] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-MMP9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген MMP9 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 46. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-MMP9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген MMP9 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 45. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-MMP9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 46, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 45. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген MMP9 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8G) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген MMP9 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг.

8G) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[376] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-MMP9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab андекаликсимаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 45 и 46, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L110N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[377] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-MMP9 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR андекаликсимаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 8G, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела MMP9 или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[378] Представлены способы лечения субъектов-людей от одного или более заболеваний сетчатки (таких как макулярная дегенерация), IBD, CF, RA или рака путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к MMP9 или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой андекаликсимаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента было диагностировано заболевание и/или имеются симптомы, связанные с одним или более заболеваниями сетчатки, IBD, CF, RA или формами рака.

[379] Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.3. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам типа сетчатки человека и могут включать в себя нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 8G, можно вводить любым способом, так что рекомбинантный вектор попадает в сетчатку, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Смотрите Раздел 5.5.3 для получения подробной информации о способах лечения. Например, для доставки в печень для лечения рака рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.2.

Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 8G, можно вводить любым способом, так что рекомбинантный вектор попадает в печень, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[380] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-MMP9 терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы предусматривают лечение пациентов, у которых было диагностировано одно или более нарушений сетчатки или типов рака, или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к MMP9 или считаются хорошими кандидатами на терапию антителом к MMP9. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению андекаликсимабом, и было обнаружено, что они чувствительны к андекаликсимабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к MMP9 или антигенсвязывающего фрагмента (например, произведенный в культуре клеток, биореакторах и т.д.) может быть введен непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[381] Производство HuPTM mAb к MMP9 или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или более заболеваний сетчатки, CF, RA, IBD или форм рака, осуществляемых с помощью генной терапии - например, путем введение вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к MMP9, субретинально, интравитреально или супрахориоидально субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов одного или более нарушений сетчатки, или путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к MMP9, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом RA, CF, IBD или рак, чтобы создать постоянное депо в сетчатке или печени, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками сетчатки или печени.

[382] Конструкция кДНК для HuPTMmAb к MMP9 или HuPTM Fab к MMP9 должна включать в себя сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка)

трансдуцированными клетками сетчатки или печени. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 1 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым клетками сетчатки или печени соответственно.

[383] В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к MMP9 или HuPTM Fab могут быть произведены в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом заболевания сетчатки или рака, у которых терапия нарушения сетчатки, IBD, CF, RA или рака считается подходящей.

[384] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к MMP9 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей андекаликсимаба, как показано на фиг. 8G (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N58, N76, Q107, N157 и/или N199 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 45) или N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 46). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи андекаликсимаба содержит группу сульфатирования в Y93 и/или Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 45) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 46). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к MMP9 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[385] Согласно некоторым вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование заболевания, которое подвергают лечению, или ослабить один или более его симптомов. В случае нарушений сетчатки, эффективность может контролироваться путем наблюдения за остротой зрения. Например, эффективность можно контролировать путем оценки изменения остроты зрения по сравнению с исходным уровнем. В случае рака

эффективность можно контролировать путем оценки одной или более онкологических конечных точек, включая в себя общую выживаемость, выживаемость без прогрессирования, время до прогрессирования, время до констатации отсутствия эффекта лечения, бессобытийную выживаемость, время до назначения следующего лечения, частоту объективных ответов или продолжительность ответа (смотрите, например, Министерство здравоохранения и социальных служб США, Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств, Центр по оценке и исследованию биологических препаратов. Руководство для промышленности: конечные точки клинических испытаний для одобрения лекарственных средств и препаратов для лечения рака. https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm071590.pdf. Published May 2007. Accessed October 13, 2017; Oncology Endpoints in a Changing Landscape. Manag. Care. 2016; 1(suppl):1-12). В случае RA, эффективность можно контролировать путем оценки одного или более из (1) количества опухших суставов, (2) количества болезненных суставов, (3) общей оценки врачом активности заболевания, (4) самоотчетов пациента о функциональном статусе , (5) самоотчета пациента о боли, (6) общей оценки активности заболевания у пациента, (7) лабораторных измерений скорости оседания С-реактивного белка и эритроцитов и (8) рентгенографического прогрессирования. (смотрите, например, Smolen JS, Aletaha D. “Assessment of rheumatoid arthritis activity in clinical trials and clinical practice” UptoDate.com Wolters Kluwer Health. Доступно по адресу: www.uptodate.com, декабрь 2017 г.) Например, в отношении CD эффективность можно отслеживать, оценивая индекс активности болезни Крона [CDAI] в течение курса лечения (например, смотрите Best WR et al. (1976) Gastroenterology, Mar;70(3):439-44, “Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study.”). Что касается UC, эффективность можно отслеживать, оценивая балл по шкале Мейо и показатель по эндоскопической шкале Мейо в течение курса лечения (например, смотрите Lobaton et al., “The Modified Mayo Endoscopic Score (MMES): A New Index for the Assessment of Extension and Severity of Endoscopic Activity in Ulcerative Colitis Patients,” J. Crohns Colitis. 2015 Oct:9(10):846-52). В случае MB эффективность можно контролировать, оценивая объем форсированного выдоха за 1 с (FEV1), сниженную частоту обострений легких, улучшение качества жизни (QoL) и, для более молодых пациентов, улучшение роста (например, смотрите VanDevanter and Konstan, “Outcome measurement for clinical trials assessing treatment of cystic fibrosis lung disease,” Clin. Investig. 2(2):163-175 (2012)).

[386] Комбинации доставки HuPTM mAb к MMP9 или его антигенсвязывающего фрагмента в сетчатку или печень, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами.

Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения макулярной дегенерации, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, лазерную фотокоагуляцию, фотодинамическую терапию вертепорфином, афлиберцептом и/или интравитреальными стероидами и введение анти-MMP9 средств, включая в себя, без ограничения, андекаликсимаб. Доступные способы лечения одного или более перечисленных выше видов рака, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, химиотерапию (например, цисплатин, гемцитабин, пеметрексед, 5-фторурацил, карбоплатин, иринотекан, интерферон альфа, оксалиплатин, паклитаксел пегилированный липосомальный доксорубицин и/или топотекан), химиотерапевтические защитные лекарственные средства (например, лейковорин), лучевую терапию, криотерапию, таргетную низкомолекулярную терапию, другие антитела, афилберцепт и/или вакцинную терапию и введение анти-MMP9, включая в себя, без ограничения, андекаликсимаб. Доступные способы лечения RA, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, бисфосфонаты, нестероидные противовоспалительные препараты (например, целекоксиб, напроксен, аспирин, индометацин, сульфасалазин и кетопрофен), стероиды (например, преднизон), модифицирующие заболевание противоревматические лекарственные средства и другие иммунодепрессанты (например, лефлуномид, метотрексат, тофактиниб, азатиоприн, микофенолат, циклоспофамид, циклоспорин), гидроксихлорохин, абатацепт, анакинра, апремиласт, ингибиторы TNF, другие антитела (например, тоцилизумаб, секукинимаб, ритуксимаб) и введение анти-MMP9, включая в себя, без ограничения, андекаликсимаб. Доступные способы лечения IBD, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, нестероидные противовоспалительные препараты (например, месаламин, сульфасалазин), стероиды (например, гидрокортизон, преднизон, будесонид), иммунодепрессанты (например, метотрексат, меркаптопурин, азатиоприн), витамины (например, железо, холекальциферол), антибиотики (например, аминосалициловая кислота, метронидазол), другие антитела (например, инфликсимаб, адалимумаб) и введение анти-MMP9, включая в себя, без ограничения, андекаликсимаб. Доступные способы лечения CF, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, антибиотики, вакцины и лекарства от кашля (например, ацетилцистеин и дорнаса альфа) и введение анти-MMP9, включая в себя, без ограничения, андекаликсимаб.

5.3.14. Анти-pKal HuPTM конструкции и составы при ангионевротическом отеке

[387] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с калликреином (pKal), полученных из антитела к pKal, и показаны для лечения ангионевротического отека, такого как наследственный ангионевротический отек. Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью ланаделумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагмента этого антитела представлена на фиг. 8H. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей связывающее pKal HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное), пациентам (субъектам-людям), у которых диагностирован ангионевротический отек, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[388] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с pKal, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с pKal, такого как ланаделумаб или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген также может кодировать анти-pKal антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[389] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части ланаделумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 47 и 48, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 8H). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 147 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи ланаделумаба) и SEQ ID NO: 148 (кодирующие Fab-часть легкой цепи ланаделумаба), как указано в таблице 5. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или

лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[390] В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на С-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-pKal антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 47 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 8H. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 47 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[391] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген pKal фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 48. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген pKal фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности,

представленной в SEQ ID NO: 48, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген pKal фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8H) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген pKal фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8H) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[392] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный ланаделумаб Fab, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь из SEQ ID NO: 47 и 48, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: M117N (тяжелая цепь) и/или Q159N, Q159S и/или E194N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[393] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ланаделумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 8H, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к pKal или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[394] Представлены способы лечения субъектов-людей от ангионевротического отека путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к pKal или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой ланаделумаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления у пациента был диагностирован и/или имеются симптомы, связанные с ангионевротическим отеком. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 8H, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[395] Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-pKal терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был диагностирован ангионевротический отек или у которых один или более симптомов связаны с ним и которые определены как отвечающие на лечение антителом к pKal или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к pKal. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению ланаделумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к ланаделумабу. Чтобы определить чувствительность, трансгенный продукт антитела к pKal или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[396] Производство HuPTM mAb к pKal или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения ангионевротического отека, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к pKal, внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов ангионевротического отека, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, производимым трансдуцированными клетками печени или мышц.

[397] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к pKal или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи ланаделумаба, как показано на фиг. 8H (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77, Q114 и/или N164 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 47) или Q99, N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 48). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи ланаделумаба содержит группу сульфатирования у Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 47) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 48). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к pKal или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[398] Согласно определенным вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab (или гипергликозилированное производное того и другого) является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование ангионевротического отека, уменьшить уровни боли или дискомфорта для пациента или уменьшить содержание аутореактивных B-клеток и плазматических клеток, производящих иммуноглобулин. Эффективность может контролироваться путем оценки функции, симптомов или степени воспаления в пораженной ткани или области тела, например, таких как кожа, суставы, почки, легкие, клетки крови, сердце и мозг. Например, эффективность можно отслеживать, оценивая изменения в степени или частоте атак.

[399] Комбинации доставки HuPTM mAb к pKal или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцу, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения ангионевротического отека, которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, даназол, антагонист рецептора брадикинина (например, икатибант), ингибитор калликреина в плазме (например, экаллантид), ингибитор C1-эстеразы, альфа-

конестат, антифибринолитические средства (например, транексамовая кислота), омализумаб и переливание свежезамороженной плазмы, антигистаминные препараты и кортикостероиды и введение с анти-pKal средствами, включая в себя, без ограничения, ланаделумаб.

5.3.15. Анти-TNFα HuPTM конструкции и составы при различных аутоиммунных заболеваниях - адалимумаб и инфликсимаб

[400] Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с фактором некроза опухоли альфа (TNFα), полученных из антитела к TNFα, такого как адалимумаб (фиг. 9A) или инфликсимаб (фиг. 9B) и показаны для лечения одного или более аутоиммунных нарушений, таких как гистраденит гнойный (HS), атопический дерматит, псориаз (например, бляшечный псориаз, пустулезный псориаз и эритродермический псориаз), артрит (например, ювенильный идиопатический артрит, ревматоидный артрит, псориатический артрит и алкилирующий спондилит) и/или IBD (например, болезнь Крона и язвенный колит) (далее совместно именуемые «AI-Ds(2) субъекта»). Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью адалимумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью инфликсимаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов антитела представлены на фиг. 9A и 9B. Доставка может быть осуществлена посредством генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей связывающее TNFα HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом с одним или более заявленными AI-D(2) для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным человеком, трансгенным продуктом.

Трансгены

[401] Представлены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с TNFα, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с TNFα, такого как адалимумаб или инфликсимаб или их варианты, как подробно описано в настоящем

документе. Трансген может также кодировать анти-TNFα антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, смотрите Courtois et al.).

[402] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части адалимумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 49 и 50, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 9A). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 149 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи адалимумаба) и SEQ ID NO: 150 (кодирующие Fab-часть легкой цепи адалимумаба), как указано в таблице 5. Каждая из последовательностей тяжелой и легкой цепей содержит сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[403] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-TNFα антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 49 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 9A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 49 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[404] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген TNFα фрагмент,

содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89% , 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 50. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген TNFα фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 49. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 50, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 49. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген TNFα фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген TNFα фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[405] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab адалимумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь из SEQ ID NO: 49 и 50, соответственно, с одной

или более из следующих мутаций: L116N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[406] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR адалимумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 9A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к TNFα или его антигенсвязывающего фрагмента.

[407] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части инфликсимаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 51 и 52, соответственно, смотрите таблицу 4 и фиг. 9B). Нуклеотидные последовательности могут представлять собой кодоны, оптимизированные для экспрессии в клетках человека, и могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 151 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи инфликсимаба) и SEQ ID NO: 152 (кодирующие Fab-часть легкой цепи инфликсимаба), как указано в таблице 5. Каждая из последовательностей тяжелой и легкой цепей содержит сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2 или 3, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

[408] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей трансгены могут содержать на C-конце последовательности вариабельного домена тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. Согласно конкретным вариантам осуществления анти-TNFα антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 51 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого аспартата (D), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности KTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 222) и, в

частности, KTHL (SEQ ID NO: 223), KTHT (SEQ ID NO: 224), KTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 225), KTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 226), KTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 227) или KTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 228), как показано на фиг. 9B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 51 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5.

[409] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген TNFα фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 52. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген TNFα фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 51. Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 52, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 51. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген TNFα фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в каркасных областях (т.е. в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как определено выравниванием на фиг. 11A. Согласно конкретным вариантам осуществления связывающий антиген TNFα фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции предпочтительно выполняются в

каркасных областях (т.е. в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 11B.

[410] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab инфликсимаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь из SEQ ID NO: 51 и 52, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T115N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (смотрите фиг. 11A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

[411] Согласно определенным вариантам осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR инфликсимаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 9B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в настоящей области техники, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к TNFα или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

[412] Представлены способы лечения субъектов-людей от одного или более из заявленных AI-D(2) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к TNFα или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой адалимумаб или инфликсимаб и предпочтительно представляет собой его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. Согласно вариантам осуществления пациенту был поставлен диагноз и/или у него имеется симптом(ы), связанный с одним или более заявленными AI-D(2). Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать в себя нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 9A и 9B, могут быть введены любым способом, так что рекомбинантный вектор входит в печень или мышечную ткань, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Смотрите Раздел 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения.

[413] Субъектами, которым вводят такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-TNFα терапию. Согласно конкретным вариантам осуществления способы

охватывают лечение пациентов, у которых был диагностирован один или более из указанных заявленных AI-D(2) или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к TNFα или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к TNFα. Согласно конкретным вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению адалимумабом или инфликсимабом, и было обнаружено, что они чувствительны к адалимумабу или инфликсимабу. Согласно другим вариантам осуществления пациенты ранее подвергались лечению антителом к TNFα или слитым белком, таким как этанерцепт, голимумаб или цертолизумаб, или другим анти-TNFα средством. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к TNFα или антигенсвязывающего фрагмента (например, производимого в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

[414] Производство HuPTM mAb к TNFα или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или более заявленных AI-D(2), осуществляемых с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к TNFα, внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов одного или более заявленных AI-D(2), для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный человеком, сульфатированный трансгенный продукт, производимый трансдуцированными клетками печени или мышц.

[415] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к TNFα или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи адалимумаба, как показано на фиг. 9A (с неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N54 и/или N163, и/или Q113 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 49) или Q100 и/или N158, и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 50). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи адалимумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95, и/или Y32 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 49) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 50). Согласно другим вариантам осуществления

HuPTM mAb к TNFα или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[416] Согласно конкретным вариантам осуществления HuPTM mAb к TNFα или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи инфликсимаба, как показано на фиг. 9B (с консенсусными и неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N), выделенными голубым цветом, сайтами гликозилирования по глутамину (Q), выделенными зеленым цветом, и сайтами Y-сульфатирования, выделенными желтым цветом), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N57 и/или N101, и/или Q112, и/или N162 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 51) или N41 и/или N76, и/или N158, и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 52). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи адалимумаба содержит группу сульфатирования в Y96 и/или Y97 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 51) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 52). Согласно другим вариантам осуществления HuPTM mAb к TNFα или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal.

[417] Согласно некоторым вариантам осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель лечения предлагаемой в настоящем документе генной терапией заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование или ослабление одного или более симптомов одного или более из заявленных AI-D(2), таких как снижение уровня боли или дискомфорта для пациента.

[418] Эффективность можно контролировать путем оценки симптомов или степени воспаления в пораженной ткани или области тела, например, таких как кожа, толстый кишечник или суставы. Например, что касается CD, эффективность можно контролировать, оценивая индекс активности болезни Крона [CDAI] в течение курса лечения (например, смотрите Best WR et al. (1976) Gastroenterology, Mar;70(3):439-44, “Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study.”). Что касается UC, эффективность можно контролировать, оценивая балл по шкале Мейо и показатель по эндоскопической шкале Мейо в течение курса лечения (например, смотрите Lobaton et al. (2015) J. Crohns Colitis. 2015 Oct;9(10):846-52, “The Modified Mayo Endoscopic Score

(MMES): A New Index for the Assessment of Extension and Severity of Endoscopic Activity in Ulcerative Colitis Patients.”). Что касается псориаза, HS и атопического дерматита, эффективность можно контролировать, оценивая изменения в пораженной коже или в качестве жизни пациента в течение курса лечения. Для оценки изменений можно использовать одну или более стандартизированных оценок. (смотрите, например, публикацию Feldman & Krueger, (2005) Ann. Rheum. Dis. 64(Suppl II):ii65–ii68: “Psoriasis assessment tools in clinical trials”, в которой описаны стандартизированные оценки, включая в себя индекс площади и тяжести псориаза (PASI), общую оценку врача (PGA), решетчатую систему, показатель псориаза NPF (NPF-PS), краткую оценку состояния здоровья по 36 пунктам на основании исследования течения заболевания (SF-36), Euro QoL, индекс качества жизни при дерматологических заболеваниях (DLQI) и Skindex; публикацию Schram et al. (2012) Allergy; 67: 99–106: “EASI, (objective) SCORAD and POEM for atopic eczema: responsiveness and minimal clinically important difference”, в которой описаны стандартизированные оценки, включая в себя Индекс площади поражения и степени тяжести экземы (EASI) и Индекс степени тяжести атопического дерматита (SCORAD)). Что касается артрита, эффективность можно контролировать, оценивая одну или более активностей заболевания, уровень функции пациента или степень структурного повреждения суставов пациента (например, смотрите публикацию Zockling & Braun (2005) Clin. Exp. Rheumatol 23 (Suppl. 39) S133-S141: “Assessment of ankylosing spondylitis”, в которой описана стандартизированная оценка анкилозирующего спондилита, смотрите также публикацию Coates et al. (2011) J. Rheumatol. 38(7):1496-1501: “Development of a disease severity and responder index for psoriatic arthritis (PsA)-report of the OMERACT 10 PsA special interest group”, в которой описаны стандартизированные оценки псориатического артрита.

[419] Комбинации доставки HuPTM mAb к TNFα или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцы, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения заявленных AI-D(2), которые можно комбинировать с представленной в настоящем документе генной терапией, включают в себя, без ограничения, фототерапию псориаза, аминосалицилаты, иммуномодулирующие средства (например, азатиоприн (AZA), 6-меркаптопурин (6-MP), метотрексат (MTX)), пероральные или местные кортикостероиды (например, преднизон или будесонид), местные ингибиторы кальциневрина, антибиотики для IBD и введение анти-TNFα средств, включая в себя, без ограничения, адалимумаб или инфликсимаб.

5.4 Доставка конструкций генной терапии

5.4.1 Конструкции для доставки в ЦНС

[420] Разделы 5.3.1, 5.3.2, 5.3.3 и 5.3.4 описывают рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с Aβ, тау-белком, CGRPR и интегрином, соответственно. Такой рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, должен обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека, таким как глиальные и нейрональные клетки. Такие векторы могут включать в себя нереплицирующиеся рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы («rAAV»), особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Однако могут быть использованы другие вирусные векторы, включая в себя, без ограничения, лентивирусные векторы, вирусные векторы коровьей оспы или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК».

[421] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены конструкции для введения генной терапии человеку, содержащие вектор AAV, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека, который экспрессирует и доставляет терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как описано в настоящем документе, особенно экспрессируется из клеток ЦНС. Согласно определенным вариантам осуществления кодированный капсид AAV9 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 79 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 12, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

[422] Согласно другим конкретным вариантам осуществления представлены конструкции для введения генной терапии субъекту-человеку, содержащие вектор AAV, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен

аминокислотной последовательности капсида AAVrh10 (SEQ ID NO : 80); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека, которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как описано в настоящем документе, особенно из клеток ЦНС. Согласно определенным вариантам осуществления кодированный капсид AAVrh10 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 80 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 12, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

[423] Предпочтительно, чтобы HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, включая трансген HuPTM Fab, контролировались соответствующими элементами контроля экспрессии для экспрессии HuPTM Fab в клетках ЦНС человека, например, промотором CB7 (промотор β-актина птиц и энхансер CMV), промотором RSV, промотором GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок), промотором MBP (основной белок миелина), промотором MMT, промотором EF-1α, U86, промотором RPE65 или промотором опсина, индуцируемым промотором, например, индуцируемым гипоксией промотором или индуцируемым лекарственным средством промотором, таким как промоторы, индуцируемые рапамицином и родственными средствами, и другими элементами контроля экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого вектором (например, интроны, такие как интрон β-актина птиц, интрон мелкого вируса мышей (MVM), интрон фактора IX человека (например, усеченный интрон 1 FIX), интрон донора сплайсинга β-глобина/акцептора сплайсинга тяжелой цепи иммуноглобулина, интрон донора сплайсинга аденовируса/акцептора сплайсинга иммуноглобулина, интрон донора позднего сплайсинга SV40/акцептора сплайсинга (19S/16S) и интрон донора сплайсинга гибридного аденовируса/акцептора сплайсинга IgG и сигналы полиА, такие как сигнал полиА кроличьего β-глобина, сигнал полиА гормона роста человека (hGH), поздний сигнал полиА SV40, синтетический сигнал полиА (SPA) и сигнал полиА бычьего гормона роста (bGH). Смотрите, например, Powell and Rivera-Soto, 2015, Discov. Med., 19(102):49-57.

[424] Конструкции генной терапии разработаны таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны быть экспрессированы в приблизительно равных количествах, иными словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются приблизительно в отношении 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Лидерная последовательность для каждой из тяжелых и легких цепей предпочтительно представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Раздел 5.1.5, выше, предоставляет конкретные последовательности IRES, 2A и других линкерных последовательностей, которые можно использовать с представленными в настоящем документе способами и композициями. Согласно конкретным вариантам осуществления линкер представляет собой линкер фурин-F2A RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 242). Согласно конкретным вариантам осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность - Fab-часть тяжелой цепи - линкерная последовательность фурина-F2A - сигнальная последовательность - Fab-часть легкой цепи. Смотрите, например, фиг. 2A-2C и 2F для последовательностей для экспрессии Fab адуканумаба, кренезумаба, гантенерумаба или BAN2401 соответственно; фиг. 2D для последовательности для экспрессии aTAU Fab; фиг. 2E для последовательности для экспрессии Fab эренумаба и фиг. 4B для последовательности для экспрессии Fab натализумаба.

[425] Согласно конкретному варианту осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают в себя a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор β-актина птиц, b) интрон β-актина птиц и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи Aβ-связывающего, тау-связывающего, CGRPR-связывающего, интегрин-связывающего Fab, разделенного саморасщепляющимся линкером фурин (F)/F2A, обеспечивающим экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

[426] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79) или AAVrh10 (SEQ

ID NO: 80); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к Aβ, к тау, к CGRPR или к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека.

5.4.2 Конструкции для доставки в клетки печени или мышц

[427] Разделы 5.3.4, 5.3.5, 5.3.6, 5.3.7, 5.3.8, 5.3.9, 5.3.10, 5.3.11, 5.3.12, 5.3.13, 5.3.14, 5.3. 15 описывают рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с интерлейкинами (IL) или рецепторами интерлейкинов (ILR), интегрином, PCSK9, ANGPTL3, OxPL RANKL, PD-1/PD-L1/PD-L2, VEGF, фактором D (fD), BLyS, CP-C5, MMP9, pKal или TNFα. Такой рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, может характеризоваться тропизмом к клеткам печени или мышц человека. Такие векторы могут включать в себя нереплицирующиеся рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы («rAAV»), особенно предпочтительными являются те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Однако могут быть использованы другие вирусные векторы, включая в себя, без ограничения, лентивирусные векторы, вирусные векторы коровьей оспы или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК».

[428] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены конструкции для введения генной терапии человеку, включающие вектор AAV, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека (например, клетках мышц или печени человека), которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как описано в настоящем документе. Согласно определенным вариантам осуществления кодированный капсид AAV8 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 78 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в

строке SUBS на фиг. 12, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

[429] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены конструкции для введения посредством генной терапии субъекту-человеку, содержащие вектор AAV, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека (например, клетках мышц или печени человека), которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления кодированный капсид AAV9 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 79 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 12, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

[430] Предпочтительно, чтобы HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, включая в себя трансген HuPTM Fab, контролировались соответствующими элементами контроля экспрессии для экспрессии HuPTM Fab в клетках печени или мышц человека, например, промотором CB7 (промотор β-актина птиц и энхансер CMV), специфическими для печени промоторами, такими как промотор TBG (тироксинсвязывающий глобулин), промотор APOA2, промотор SERPINA1 (hAAT) или промотор MIR122, или мышечно-специфическими промоторами, такими как промотор десмина человека или промотор Pitx3 человека или индуцируемыми промоторами, такими как индуцируемые гипоксией промоторы или индуцируемый рапамицином промотор, и могут включать в себя другие элементы контроля экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого вектором (например, интроны, такие как интрон β-актина птиц, интрон мелкого вируса мышей (MVM), интрон человеческого фактора IX (например, усеченный интрон 1 FIX),

интрон донора сплайсинга β-глобина/акцептора сплайсинга тяжелой цепи иммуноглобулина, интрон донора сплайсинга аденовируса/акцептора сплайсинга иммуноглобулина, интрон донора позднего сплайсинга SV40/акцептора сплайсинга (19S/16S) и интрон донора сплайсинга гибридного аденовируса/акцептора сплайсинга IgG и сигналы полиА, такие как сигнал полиА кроличьего β-глобина, сигнал полиА гормона роста человека (hGH), поздний сигнал полиА SV40, синтетический сигнал полиА (SPA) и сигнал полиА бычьего гормона роста (bGH). Смотрите, например, Powell and Rivera-Soto, 2015, Discov. Med., 19(102):49-57.

[431] Конструкции генной терапии разработаны таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны быть экспрессированы в приблизительно равных количествах, иными словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются приблизительно в отношении 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Лидерная последовательность для каждой из тяжелых и легких цепей предпочтительно представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Раздел 5.1.5, выше, предоставляет конкретные последовательности IRES, 2A и других линкерных последовательностей, которые можно использовать с представленными в настоящем документе способами и композициями. Согласно конкретным вариантам осуществления линкер представляет собой линкер фурин-F2A RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 242). Согласно конкретным вариантам осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность - Fab-часть тяжелой цепи - линкерная последовательность фурин-F2A - сигнальная последовательность - Fab-часть легкой цепи. Смотрите, например, фиг. 3A-3E для последовательностей экспрессии Fab дупилумаба, иксекизумаба, секукинумаба, устекинумаба и меполизумаба, соответственно; фиг. 4A и 4B для последовательности для экспрессии Fab ведолизумаба и натализумаба, соответственно; фиг. 5A-5D для последовательностей для экспрессии Fab алирокумаба, эволокумаба, эвинакумаба и E06-scFv, соответственно; фиг. 6 для последовательности для экспрессии Fab деносумаба; фиг. 7A и 7B для последовательностей для экспрессии Fab ниволумаба и пембролизумаба, соответственно; фиг. 8A-8C для последовательностей экспрессии Fab ранибизумаба, бевацизумаба и лампализумаба, соответственно; фиг. 8E для последовательности для экспрессии Fab белимумаба; фиг. 8F для последовательности для экспрессии Fab экулизумаба; фиг. 8G для последовательности для экспрессии Fab

андекаликсимаба; фиг. 8H для последовательности для экспрессии Fab ланаделумаба и фиг. 9A и 9B для последовательности для экспрессии Fab адалимумаба и экспрессии Fab инфликсимаба, соответственно.

[432] Согласно конкретному варианту осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают в себя a) индуцируемый промотор, предпочтительно индуцируемый гипоксией промотор, b) интрон β-актина птиц и c) сигнал поли A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи IL/ILR-связывающего, интегрин-связывающего, PCSK9-связывающего, ANGPTL3-связывающего, RANKL-связывающего, OxPL-связывающего, PD-1/PD-L1/PD-L2-связывающего, VabF-связывающего Fab, fD-связывающего, BLyS-связывающего, pKal-связывающего или TNFα-связывающего Fab, разделенных линкером, расщепляющим линкер фурин (F)/F2A, обеспечивая экспрессию в равных количествах полипептидов тяжелой и легкой цепи. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

[433] Согласно конкретному варианту осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают в себя a) индуцируемый промотор, предпочтительно индуцируемый гипоксией промотор, b) интрон β-актина птиц и c) сигнал поли A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи IL/ILR-связывающего, интегрин-связывающего, PCSK9-связывающего, ANGPTL3-связывающего, OxPL-связывающего, RANKL-связывающего, PD-1/PD-L1/PD-L2-связывающего, VEGF-связывающего Fab, fD-связывающего, BLyS-связывающего, CP-C5-связывающего, MMP9-связывающего, pKal-связывающего, TNFα-связывающего Fab, разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/F2A, обеспечивающие экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепи. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

[434] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий MAb к IL/ILR, к интегрину, к PCSK9, к ANGPTL3, к OxPL, к RANKL, к PD-1, к PD-L1, к PD-L2, к VEGF, к FD, к BLyS, к CP-C5, к MMP9, к pKal или к TNFα или его

антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышц человека.

[435] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности AAV9 (SEQ ID NO: 79); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к IL/ILR, к интегрину, к PCSK9, к ANGPTL3, к RANKL, к RANKL, к OxPL, к PD-1, к PD-L1, к PD-L2, к VEGF, к fD, к BLyS, к pKal или к TNFα или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в мышечных клетках человека.

5.4.3 Конструкции для доставки к типам клеток сетчатки

[436] В разделах 5.3.9 и 5.3.12 описаны рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с VEGF, фактором D (fD) или MMP9. Такие рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, могут характеризоваться тропизмом для одного или более типов клеток сетчатки человека. Такие векторы могут включать в себя нереплицирующиеся рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы («rAAV»), особенно предпочтительными являются те, которые несут капсид AAV8. В качестве альтернативы можно использовать вектор AAV, содержащий капсид AAV.7m8. Однако могут быть использованы другие вирусные векторы, включая в себя, без ограничения, лентивирусные векторы, вирусные векторы коровьей оспы или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК».

[437] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены конструкции для введения генной терапии субъекту-человеку, содержащие вектор AAV, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелые и легкие цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека (например, клетках сетчатки или клетках печени), которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим

способом, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления кодированный капсид AAV8 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 78 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 12, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

[438] Предпочтительно, чтобы mAb HuPTM или его антигенсвязывающий фрагмент, включая в себя трансген HuPTM Fab, контролировались соответствующими элементами контроля экспрессии для экспрессии HuPTM Fab в клетках сетчатки или клетках печени человека, например, промотором CB7 (промотор β-актина птиц и энхансер CMV), или тканеспецифическими промоторами, такими как RPE-специфические промоторы, например, промотор RPE65, или колбочко-специфические промоторы, например, промотор опсина, или специфические для печени промоторы, такие как промотор TBG (тироксин-связывающий глобулин), промотор APOA2, промотор SERPINA1 (hAAT) или промотор MIR122, индуцируемые промоторы, например, индуцированные гипоксией промоторы и индуцируемые лекарственным средством промоторы, такие как промоторы, индуцируемые рапамицином и родственными средствами, и могут включать в себя другие контрольные элементы экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого вектором (например, интроны, такие как интрон β-актина птиц, интрон мелкого вируса мышей (MVM), интрон фактора IX человека (например, усеченный интрон 1 FIX), интрон донора сплайсинга β-глобина/акцептора сплайсинга тяжелой цепи иммуноглобулина, интрон донора сплайсинга аденовируса/акцептора сплайсинга иммуноглобулина, интрон донора позднего сплайсинга SV40/акцептора сплайсинга (19S/16S) и интрон донора сплайсинга гибридного аденовируса/акцептора сплайсинга IgG и сигналы полиА, такие как сигнал полиА кроличьего β-глобина, сигнал полиА гормона роста человека (hGH), поздний сигнал полиА SV40, синтетический сигнал полиА (SPA) и сигнал полиА бычьего гормона роста (bGH). Смотрите, например, Powell and Rivera-Soto, 2015, Discov. Med., 19(102):49-57.

[439] Конструкции генной терапии разработаны таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны экспрессироваться в приблизительно равных количествах, иными словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются в отношении приблизительно 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть

сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Лидерная последовательность для каждой из тяжелых и легких цепей предпочтительно представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). В разделе 5.1.5, выше, представлены конкретные последовательности IRES, 2A и других линкерных последовательностей, которые можно использовать со способами и композициями, представленными в настоящем документе. Согласно конкретным вариантам осуществления линкер представляет собой линкер фурин-F2A RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 242). Согласно конкретным вариантам осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность - Fab-часть тяжелой цепи - линкерная последовательность фурин-F2A - сигнальная последовательность - Fab-часть легкой цепи. Смотрите фиг. 8A-8C для последовательностей экспрессии Fab ранибизумаба, бевацизумаба и лампализумаба, соответственно, и фиг. 8G для последовательности для экспрессии Fab андекаликсимаба.

[440] Согласно конкретному варианту осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают в себя a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор β-актина птиц, b) интрон β-актина птиц и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи VabF-связывающего, fD-связывающего или MMP9-связывающего Fab, разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/F2A, обеспечивая экспрессию в равных количествах полипептидов тяжелой и легкой цепи. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

[441] Согласно другому варианту осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают в себя a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор β-актина птиц, b) интрон β-актина птиц и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи VabF-связывающего, fD-связывающего или MMP9-связывающего Fab, разделенные гибким пептидным линкером, обеспечивая надлежащее сворачивание и растворимость.

[442] Согласно конкретным вариантам осуществления представлены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен

аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к VEGF, к fD или к MMP9 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в одном или более типах клеток сетчатки (таких как клетки фоторецепторов человека (клетки колбочек, клетки палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (клетка среднего размера, зонтичная клетка, бистратифицированная клетка, гигантская ганглиозная клетка сетчатки, светочувствительная ганглиозная клетка и глия мюллера) и пигментные эпителиальные клетки сетчатки).

5.5 Введение дозы

5.5.1 Введение для доставки в ЦНС.

[443] В разделах 5.3.1, 5.3.2, 5.3.3 и 5.3.4 описаны рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с Aβ, тау-белком, CGRPR и интегрином, соответственно. Терапевтически эффективные дозы любого такого рекомбинантного вектора следует вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). Согласно конкретным вариантам осуществления вектор вводят интратекально, конкретно интрацистернально (например, в цистерну магна) или, альтернативно, посредством люмбальной доставки. Альтернативно, рекомбинантный вектор можно вводить внутривенно. В частности, было показано, что рекомбинантные векторы AAV9 проникают через гематоэнцефалический барьер и, как таковые, могут быть применимы для доставки анти-Aβ, анти-тау, анти-CGRPR или анти-интегрин трансгенного продукта в ЦНС. В частности, scAAV9 может быть особенно применим для внутривенного введения. Интратекальное, включая в себя интрацистернальное или люмбальное введение, или внутривенное введение должно приводить к экспрессии растворимого трансгенного продукта в клетках ЦНС. Экспрессия трансгенного продукта (например, кодируемого антитела к Aβ, к тау, к CGRPR или к интегрину) приводит к доставке и поддержанию трансгенного продукта в ЦНС. Поскольку трансгенный продукт постоянно производится, поддержание более низких концентраций может быть эффективным. Концентрация трансгенного продукта может быть измерена в образцах пациентов с CSF.

[444] Фармацевтические композиции, подходящие для интратекального, интрацистернального, люмбального или внутривенного введения, включают в себя

суспензию рекомбинантного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к Aβ, к тау, к CGRPR или к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент, в буфере для состава, содержащем физиологически совместимый водный буфер. Буфер для состава может содержать один или более из полисахаридов, поверхностно-активных веществ, полимера или масла.

5.5.2 Введение для доставки в печень или мышечную ткань

[445] В разделах 5.3.4, 5.3.5, 5.3.6, 5.3.7, 5.3.8, 5.3.9, 5.3.10, 5.3.11, 5.3.12, 5.3.13 и 5.3.14 описаны рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с интерлейкинами (IL) или рецепторами интерлейкинов (ILR), интегрином, PCSK9, ANGPTL3, RANKL, PD-1/PD -L1/PD-L2, VEGF, фактором D (fD), BLyS, CP-C5, MMP9, pKal или TNFα. Терапевтически эффективные дозы любого такого рекомбинантного вектора следует вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень или мышцу (например, в скелетную мышцу), предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Альтернативно, вектор можно вводить непосредственно в печень через печеночный кровоток, например, через печеночные вены или через печеночную артерию. Согласно конкретным вариантам осуществления вектор вводят подкожно, внутримышечно или внутривенно. Внутримышечное, подкожное, внутривенное или печеночное введение должно приводить к экспрессии растворимого трансгенного продукта в клетках печени или мышц. Альтернативно, вектор можно вводить непосредственно в печень через печеночный кровоток, например, через печеночные вены или через печеночную артерию. Экспрессия трансгенного продукта (например, кодируемого антитела к IL/ILR, к интегрину, к PCSK9, к ANGPTL3, к RANKL, к PD-1, к PD-L1, к PD-L2, к VEGF, к fD, к BLyS, к CP-C5, к MMP9, к pKal или к TNFα) приводит к доставке и поддержанию трансгенного продукта в печени или мышцах.

[446] Концентрация трансгенного продукта может быть измерена в образцах сыворотки крови пациента. Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта антитела к IL/ILR при C_{min} по меньшей мере 2 мкг/мл, такую как C_{min} от 5 до 30 мкг/мл, от 5 до 50 мкг/мл или от 5 до 80 мкг/мл, или от 5 до 100 мкг/мл, или от 5 до 200 мкг/мл в зависимости от используемого mAb. Например, для достижения C_{min} приблизительно от 60 до 90 мкг/мл дупилумаба (сравнимого с двухнедельным дозированием) или от 170 до 200 мкг/мл дупилумаба (сравнимого с еженедельным дозированием) или приблизительно от 2 мкг/мл до 12 мкг/мл иксекизумаба, или приблизительно от 13 мкг/мл до 50 мкг/мл секукинумаба.

[447] Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта антитела к TNFα при C_{min} по меньшей мере 0,5 мкг/мл или по меньшей мере 1 мкг/мл (например, C_{min} от 1 до 10 мкг/мл, от 3 до 30 мкг/мл или от 5 до 15 мкг/мл, или от 5 до 30 мкг/мл).

[448] Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта антитела к интегрину при C_{min} по меньшей мере 10 мкг/мл (например, C_{min} от 10 до 60 мкг/мл).

[449] Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта антитела к PCSK9 или к ANGPTL3 при C_{min} по меньшей мере 10 мкг/мл, например, C_{min} от 10 до 80 мкг/мл.

[450] Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта антитела к RANKL при C_{min} по меньшей мере 10 мкг/мл (например, C_{min} от 10 до 50 мкг/мл или от 15 до 30 мкг/мл).

[451] Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта антитела к PD-1, к PD-L1 или к PD-L2 при C_{min} по меньшей мере 10 мкг/мл, например, желательно C_{min} от 10 до 100 мкг/мл или от 100 до 300 мкг/мл, или от 300 до 600 мкг/мл.

[452] Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта антитела к BLyS при C_{min} по меньшей мере 70 мкг/мл (например, C_{min} от 70 до 150 мкг/мл или от 100 до 200 мкг/мл, или от 200 до 350 мкг/мл).

[453] Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию продукта трансгена антитела к pKal при C_{min} по меньшей мере 70 мкг/мл (например, C_{min} от 70 до 150 мкг/мл или от 100 до 200 мкг/мл, или от 200 до 350 мкг/мл).

[454] Экспрессия трансгенного продукта (например, кодированного антитела к VEGF) приводит к доставке и поддержанию трансгенного продукта в печени. Согласно некоторым вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта VEGF при C_{min} по меньшей мере 90 мкг/мл, например, C_{min} от 90 мкг/мл до 200 мкг/мл. Согласно конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию продукта трансгена антитела к CP-C5 при C_{min} по меньшей мере 30 мкг/мл, например, C_{min} от 30 до 300 мкг/мл или от 100 до 200 мкг/мл.

[455] Однако во всех случаях, поскольку трансгенный продукт постоянно производится, может быть эффективным поддержание более низких концентраций.

Несмотря на то, что трансгенный продукт непрерывно производится, поддержание более низких концентраций может быть эффективным. Концентрация трансгенного продукта может быть измерена в образцах сыворотки крови пациента.

[456] Фармацевтические композиции, подходящие для внутривенного, внутримышечного, подкожного или печеночного введения, включают в себя суспензию рекомбинантного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к IL/ILR, к интегрину, к PCSK9, к ANGPTL3, к RANKL, к RANKL к PD-1, к PD-L1, к PD-L2, к VEGF, к FD, к BLyS, к CP-C5, к MMP9, к pKal или к TNFα или его антигенсвязывающий фрагмент, в буфере для состава, содержащем физиологически совместимый водный буфер. Буфер для состава может содержать одно или более из полисахаридов, поверхностно-активных веществ, полимера или масла.

5.5.3 Введение для доставки в клетки типа сетчатки

[457] Терапевтически эффективные дозы рекомбинантного вектора следует вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в сетчатку, предпочтительно путем введения рекомбинантного вектора непосредственно в глаз. Согласно конкретным вариантам осуществления вектор вводят субретинально (хирургическая процедура, выполняемая обученными хирургами по сетчатке глаза, которая включает в себя частичную витрэктомию с субъектом под местной анестезией и инъекцию генной терапии в сетчатку; смотрите, например, публикацию Campochiaro et al., 2016, Hum Gen Ther Sep 26 epub:doi: 10.1089/hum.2016.117, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки), или интравитреально, или супрахориоидально, например, путем микроинъекции или микрокануляции. (Смотрите, например, публикации Patel et al., 2012, Invest Ophth & Vis Sci 53:4433-4441; Patel et al., 2011, Pharm Res 28:166-176; Olsen, 2006, Am J Ophth 142:777-787, каждая из которых полностью включена посредством ссылки). Субретинальное, интравитреальное или супрахориоидальное введение должно приводить к экспрессии растворимого трансгенного продукта в одном или более из следующих типов клеток сетчатки: человеческие фоторецепторные клетки (клетки колбочек, клетки палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (карликовая клетка, зонтичная клетка, бистратифицированная клетка, гигантская ганглиозная клетка сетчатки, светочувствительная ганглиозная клетка и глия мюллера); и пигментные эпителиальные клетки сетчатки. Экспрессия трансгенного продукта (например, кодируемого антитела к VEGF, к fD, к MMP9) приводит к доставке и поддержанию трансгенного продукта в сетчатке.

[458] Концентрация трансгенного продукта может быть измерена в образцах стекловидного тела и/или передней камеры обработанного глаза пациентов. Согласно

конкретным вариантам осуществления желательны дозы, которые поддерживают концентрацию анти-VEGF, анти-fD трансгенного продукта при C_{min} по меньшей мере 0,33 мкг/мл в стекловидном теле или 0,11 мкг/мл в водянистой влаге (передней камере глаза) в течение трех месяцев; после этого следует поддерживать концентрации C_{min} в стекловидном теле трансгенного продукта в диапазоне от 1,70 до 6,60 мкг/мл и/или концентрации C_{min} в водянистой влаге в диапазоне от 0,567 до 2,20 мкг/мл. Однако, поскольку трансгенный продукт постоянно производится, может быть эффективным поддержание более низких концентраций. В качестве альтернативы концентрации в стекловидной влаге можно оценить и/или контролировать путем измерения концентраций трансгенного продукта в сыворотке крови пациента - соотношение системного и витреального воздействия трансгенного продукта составляет приблизительно 1:90000. (Например, смотрите, о концентрации ранибизумаба в стекловидном теле и концентрации ранибизумаба в сыворотке сообщается в публикации Xu L, et al., 2013, Invest. Opthal. Vis. Sci. 54: 1616-1624, на стр. 1621 и в таблице 5 на стр. 1623, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Однако, поскольку трансгенный продукт постоянно производится, поддержание более низких концентраций может быть эффективным.

[459] Подходящие для введения фармацевтические композиции включают в себя суспензию рекомбинантного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к VEGF, к fD или к MMP9 или его антигенсвязывающий фрагмент, в буфере для состава, содержащем физиологически совместимый водный буфер. Буфер для состава может содержать одно или более из полисахаридов, поверхностно-активных веществ, полимера или масла.

6. ПРИМЕРЫ

6.1. ПРИМЕР 1. Вектор на основе кДНК Fab адуканумаба.

[460] Конструируют вектор на основе кДНК Fab адуканумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей адуканумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 101 и 102, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, в частности, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Нуклеотидные

последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 2A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.2. ПРИМЕР 2: Вектор на основе кДНК Fab кренезумаба

[461] Конструируют вектор на основе кДНК Fab кренезумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей кренезумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 103 и 104, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, в частности, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 2B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.3. ПРИМЕР 3: Вектор на основе кДНК Fab гантенерумаба.

[462] Конструируют вектор на основе кДНК Fab гантенерумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей гантенерумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 5 и 6, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 105 и 106, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, в частности, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 2C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.4. ПРИМЕР 4. Вектор на основе кДНК Fab дупилумаба.

[463] Конструируют вектор на основе кДНК Fab дупилумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей дупилумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 107 и 108, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 3A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

ПРИМЕР 5. Вектор на основе кДНК Fab иксекизумаба.

[464] Конструируют вектор на основе кДНК Fab иксекизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей иксекизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 109 и 110, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 3B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Необязательно, вектор дополнительно содержит индуцируемый гипоксией промотор.

6.6. ПРИМЕР 6. Вектор на основе кДНК Fab секукинумаба.

[465] Конструируют вектор на основе кДНК Fab секукинумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей секукинумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 11 и 12, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 111 и 112, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, выбранный из группы, представленной в таблице 2 или 3, соответственно. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A, для создания бицистронного вектора. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 3C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.7. ПРИМЕР 7. Вектор на основе кДНК Fab устекинумаба.

[466] Конструируют вектор на основе кДНК Fab устекинумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей устекинумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 113 и 114, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности,

кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 3D для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.8. ПРИМЕР 8. Вектор на основе кДНК Fab меполизумаба.

[467] Конструируют вектор на основе кДНК Fab меполизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей меполизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 15 и 16, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках мышц или печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 115 и 116, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 3E для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.9. ПРИМЕР 9. Вектор на основе кДНК Fab ведолизумаба.

[468] Конструируют вектор на основе кДНК Fab ведолизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей ведолизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 17 и 18, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 117 и 118, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц

сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 4A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.10. ПРИМЕР 10. Вектор на основе кДНК Fab натализумаба.

[469] Конструируют вектор на основе кДНК Fab натализумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей натализумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 19 и 20, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 119 и 120, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 4B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.11. ПРИМЕР 11. Вектор на основе кДНК Fab алирокумаба.

[470] Конструируют вектор на основе кДНК Fab алирокумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей алирокумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 21 и 22, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 121 и 122, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую

для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 5A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.12. ПРИМЕР 12. Вектор на основе кДНК Fab эволокумаба.

[471] Конструируют вектор на основе кДНК Fab эволокумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей эволокумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 23 и 24, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 123 и 124, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 5B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.13. ПРИМЕР 13. Вектор на основе кДНК Fab эвинакумаба.

[472] Конструируют вектор на основе кДНК Fab эвинакумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей эвинакумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 25 и 26, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 125 и 126, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой

MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 5C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.14. ПРИМЕР 14. Вектор на основе кДНК Fab деносумаба.

[473] Конструируют вектор на основе кДНК Fab деносумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей деносумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 27 и 28, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 127 и 128, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 6 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.15. ПРИМЕР 15. Вектор на основе кДНК Fab ниволумаба.

[474] Конструируют вектор на основе кДНК Fab ниволумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей ниволумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 29 и 30, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129 и 130, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности,

которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 7A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.16. ПРИМЕР 16: Вектор на основе кДНК Fab пембролизумаба.

[475] Конструируют вектор на основе кДНК Fab пембролизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей пембролизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 31 и 32, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131 и 132, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 7B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.17. ПРИМЕР 17. Вектор на основе кДНК Fab ранибизумаба.

[476] Конструируют вектор на основе Fab кДНК ранибизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей ранибизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 33 и 34, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках сетчатки или печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID

NO: 133 и 134, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для сетчатки сигнальную последовательность из таблицы 1 или специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 8A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.18. ПРИМЕР 18. Вектор на основе кДНК Fab бевацизумаба.

[477] Конструируют вектор на основе Fab кДНК бевацизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей бевацизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 35 и 36, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках сетчатки или печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 135 и 136, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для сетчатки сигнальную последовательность из таблицы 1 или специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 8B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.19. ПРИМЕР 19. Вектор на основе кДНК Fab лампализумаба.

[478] Конструируют вектор на основе кДНК Fab лампализумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей лампализумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 37 и 38, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках сетчатки человека,

и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 137 и 138, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или является специфической для сетчатки сигнальной последовательностью из таблицы 1. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделены элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 8C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.20. ПРИМЕР 20. Вектор на основе кДНК scFv бролуцизумаба.

[479] Конструируют вектор на основе кДНК scFv бролуцизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие вариабельный домен последовательностей тяжелой и легкой цепей бролуцизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 39 и 40, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая вариабельные домены тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках сетчатки или печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 139 и 140, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для сетчатки сигнальную последовательность из таблицы 1 или специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделены гибким пептидным линкером. Смотрите фиг. 8D для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.21. ПРИМЕР 21. Вектор на основе кДНК Fab белимумаба.

[480] Конструируют вектор на основе кДНК Fab белимумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей белимумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 41 и 42, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени человека,

и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 141 и 142, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделены элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 8E для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.22 ПРИМЕР 22: Вектор на основе кДНК Fab экулизумаба

[481] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab экулизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей экулизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 43 и 44, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 143 и 144, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделены элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 8F для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как промотор CB7.

6.23. ПРИМЕР 23. Вектор на основе кДНК Fab андекаликсимаба.

[482] Конструируют вектор на основе кДНК Fab андекаликсимаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей андекаликсимаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 45 и 46, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 145 и 146, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые

кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделены элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 8G для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.24. ПРИМЕР 24. Вектор на основе кДНК Fab ланаделумаба.

[483] Конструируют вектор на основе кДНК Fab ланаделумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей ланаделумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 47 и 48, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 147 и 148, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделены элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 8H для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.25. ПРИМЕР 25. Вектор на основе кДНК Fab адалимумаба.

[484] Конструируют вектор на основе кДНК Fab адалимумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей адалимумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 49 и 50, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени или мышц человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 149 и 150, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой

MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой сигнальную последовательность, специфическую для печени или мышц из таблицы 2 или 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделены элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 9A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.26. ПРИМЕР 26. Вектор на основе кДНК Fab инфликсимаба.

[485] Конструируют вектор на основе кДНК Fab инфликсимаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей инфликсимаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 51 и 52, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках печени человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 151 и 152, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделены элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 9B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как промотор CB7.

6.27. ПРИМЕР 27: Вектор на основе кДНК Fab aTAU.

[486] Конструируют вектор на основе кДНК Fab aTAU, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей aTAU (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 53 и 54, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 153 и 154, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, в частности, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 2D

для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.28. ПРИМЕР 28. Вектор на основе кДНК Fab эренумаба.

[487] Конструируют вектор на основе кДНК Fab эренумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей эренумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 55 и 56, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 155 и 156, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, в частности, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 2E для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.29. Пример 29. Вектор на основе кДНК Fab BAN2401.

[488] Конструируют вектор на основе кДНК Fab BAN2401, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей BAN2401 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 57 и 58, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, представляет собой кодон, оптимизированный для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 157 и 158, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, в частности, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A для создания бицистронного вектора. Смотрите фиг. 2F для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.30. ПРИМЕР 30. Вектор на основе кДНК Fab E06-scFv.

[489] Конструируют вектор на основе кДНК Fab E06-scFv, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие последовательности вариабельного домена тяжелой и легкой цепей E06-scFv (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 59 и 60, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая вариабельные домены тяжелой и легкой цепей, оптимизирована по кодонам для экспрессии в клетках печени или мышц человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 159 и 160, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, который может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 161) или представляет собой специфическую для печени сигнальную последовательность из таблицы 2 или специфическую для мышц сигнальную последовательность из таблицы 3. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь разделены гибким пептидным линкером. Смотрите фиг. 5D для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает в себя конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

Таблица 4. Таблица аминокислотных последовательностей фрагмента Fab

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Адуканумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO:1	XVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFAFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAV IWFDGTKKYY TDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNTLRAED TAVYYCARDR GIGARRGPYY MDVWGKGTTV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/-PELLGGPSVFL
Адуканумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ SYSTPLTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Кренезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 3	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMSWVRQA PGKGLELVAS INSNGGSTYY PDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCASGD YWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT KTYTCNVDHK PSNTKVDKRV ESKY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL

Кренезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 4	DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV YSNGDTYLHW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQSTHVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
Гантенерумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 5	QVELVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA INASGTRTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARGK GNTHKPYGYV RYFDVWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Гантенерумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 6	DIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SSYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGVP ARFSGSGSGT DFTLTISSLE PEDFATYYCL QIYNMPITFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
Дупилумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 7	EVQLVESGGG LEQPGGSLRL SCAGSGFTFR DYAMTWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGGNTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDR LSITIRPRYY GLDVWGQGTT VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTKTYTCNV DHKPSNTKVD KRVESKY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
Дупилумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 8	DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLL YSIGYNYLDW YLQKSGQSPQ LLIYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGF YYCMQALQTP YTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
Иксекизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 9	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYSFT DYHIHWVRQA PGQGLEWMGV INPMYGTTDY NQRFKGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARYD YFTGTGVYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTKTY TCNVDHKPSN TKVDKRVESK Y +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
Иксекизумаб	Легкая/ SEQ ID NO:10	DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISCRSSRSLV HSRGNTYLHW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNRF IGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQSTHLP FTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
Секукинумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 11	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAA INQDGSEKYY VGSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRVED TAVYYCVRDY YDILTDYYIH YWYFDLWGRG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKRVEPKSC D +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Секукинумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 12	EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SSYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYYCQ QYGSSPCTFG QGTRLEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
Устекинумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 13	EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT TYWLGWVRQM PGKGLDWIGI MSPVDSDIRY SPSFQGQVTM SVDKSITTAY LQWNSLKASD TAMYYCARRR PGQGYFDFWG QGTLVTVSSS STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKRVEPK SCD +/- KTHT (or KTHL)+/- CPPCPA +/-PELLGGPSVFL
Устекинумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 14	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS SWLAWYQQKP EKAPKSLIYA ASSLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNIYPYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Меполизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 15	QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTVSGFSLT SYSVHWVRQP PGKGLEWLGV IWASGGTDYN SALMSRLSIS KDTSRNQVVL TMTNMDPVDT ATYYCARDPP SSLLRLDYWG RGTPVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKRVEPK SCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/-PELLGGPSVFL
Меполизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 16	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL NSGNQKNYLA WXQQKPGQPP KLLIYGASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNVHSF PFTFGGGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
Ведолизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 17	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKGSGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE IDPSESNTNY NQKFKGRVTL TVDISASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGG YDGWDYAIDY WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELAGAPSVFL
Ведолизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 18	DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLA KSYGNTYLSW YLQKPGQSPQ LLIYGISNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCLQGTHQP YTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
Натализумаб	Тяжелая /SEQ ID NO: 19	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGFNIK DTYIHWVRQA PGQRLEWMGR IDPANGYTKY DPKFQGRVTI TADTSASTAY MELSSLRSED TAVYYCAREG YYGNYGVYAM DYWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH KPSNTKVDKR VESKY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL

Натализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 20	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKTSQDIN KYMAWYQQTP GKAPRLLIHY TSALQPGIPS RFSGSGSGRD YTFTISSLQP EDIATYYCLQ YDNLWTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
Алирокумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 21	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFN NYAMNWVRQA PGKGLDWVST ISGSGGTTNY ADSVKGRFII SRDSSKHTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDS NWGNFDLWGR GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Алирокумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 22	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSVL YRSNNRNFLG WYQQKPGQPP NLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQQYYTT PYTFGQGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
Эволокумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 23	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTLT SYGISWVRQA PGQGLEWMGW VSFYNGNTNY AQKLQGRGTM TTDPSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARGY GMDVWGQGTT VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSN FGTQTYTCNV DHKPSNTKVD KTVERKCCVE +/- CPPCPA +/- PPVAG
Эволокумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 24	ESALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSSDVG GYNSVSWYQQ HPGKAPKLMI YEVSNRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDEADYYC NSYTSTSMVF GGGTKLTVLG QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTTPSKQ SNNKYAASSY LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH EGSTVEKTVA PTECS
Эвинакумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 25	EVQLVESGGG VIQPGGSLRL SCAASGFTFD DYAMNWVRQG PGKGLEWVSA ISGDGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNSLY LQMNSLRAED TAFFYCAKDL RNTIFGVVIP DAFDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPC SRSTSESTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTKTYTCN VDHKPSNTKV DKRVESKYGP P +/- CPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
Эвинакумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 26	DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSIR SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASSLESGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNSYSYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Деносумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 27	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSG ITGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDP GTTVIMSWFD PWGQGTLVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKKV EPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Деносумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 28	EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVR GRYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVFYCQ QYGSSPRTFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
Ниволумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 29	QVQLVESGGG VVQPGRSLRL DCKASGITFS NSGMHWVRQA PGKGLEWVAV IWYDGSKRYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCATND DYWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH KPSNTKVDKR VESKY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
Ниволумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 30	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Пембролизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 31	QVQLVQSGVE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYYMYWVRQA PGQGLEWMGG INPSNGGTNF NEKFKNRVTL TTDSSTTTAY MELKSLQFDD TAVYYCARRD YRFDMGFDYW GQGTTVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
Пембролизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 32	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASKGVS TSGYSYLHWY QQKPGQAPRL LIYLASYLES GVPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQHSRDLPL TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
Ранибизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 33	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYDFT HYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP YYYGTSHWYF DVWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Ранибизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 34	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Бевацизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 35	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCD +/- KTHT (KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Бевацизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 36	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Лампализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 37	EVQLVQSGPE LKKPGASVKV SCKASGYTFT NYGMNWVRQA PGQGLEWMGW INTYTGETTY ADDFKGRFVF SLDTSVSTAY LQISSLKAED TAVYYCEREG GVNNWGQGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Лампализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 38	DIQVTQSPSS LSASVGDRVT ITCITSTDID DDMNWYQQKP GKVPKLLISG GNTLRPGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ SDSLPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Бролуцизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 39	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCTASGFSLT DYYYMTWVRQ APGKGLEWVG FIDPDDDPYY ATWAKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGGD HNSGWGLDIW GQGTLVTVSS
Бролуцизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 40	EIVMTQSPST LSASVGDRVI ITCQASEIIH SWLAWYQQKP GKAPKLLIYL ASTLASGVPS RFSGSGSGAE FTLTISSLQP DDFATYYCQN VYLASTNGAN FGQGTKLTVL G
Белимумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 41	QVQLQQSGAE VKKPGSSVRV SCKASGGTFN NNAINWVRQA PGQGLEWMGG IIPMFGTAKY SQNFQGRVAI TADESTGTAS MELSSLRSED TAVYYCARSR DLLLFPHHAL SPWGRGTMVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/-PELLGGPSVFL
Белимумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 42	SSELTQDPAV SVALGQTVRV TCQGDSLRSY YASWYQQKPG QAPVLVIYGK NNRPSGIPDR FSGSSSGNTA SLTITGAQAE DEADYYCSSR DSSGNHWVFG GGTELTVLGQ PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS
Экулизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 43	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFS NYWIQWVRQA PGQGLEWMGE ILPGSGSTEY TENFKDRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARYF FGSSPNWYFD VWGQGTLVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSNFGT QTYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCC*VE* +/- CPPCPA +/- PPVAG
Экулизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 44	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCGASENIY GALNWYQQKP GKAPKLLIYG ATNLADGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQN VLNTPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ

		ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Андекаликсимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 45	QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGFSLL SYGVHWVRQP PGKGLEWLGV IWTGGTTNYN SALMSRFTIS KDDSKNTVYL KMNSLKTEDT AIYYCARYYY GMDYWGQGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTKTYTCNV DHKPSNTKVD KRVESKY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
Андекаликсимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 46	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVR NTVAWYQQKP GKAPKLLIYS SSYRNTGVPD RFSGSGSGTD FTLTISSLQA EDVAVYYCQQ HYITPYTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Ланаделумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 47	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS HYIMMWVRQA PGKGLEWVSG IYSSGGITVY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAYRR IGVPRRDEFD IWGQGTMVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKRV EPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Ланаделумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 48	DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSIS SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASTLESGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNTYWTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
Адалимумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 49	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASGFTFD DYAMHWVRQA PGKGLEWVSA ITWNSGHIDY ADSVEGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAKVS YLSTASSLDY WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCD +/- KTHT (KTHL) +/- CPPCPA +/-PELLGGPSVFL
Адалимумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 50	RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCQR YNRAPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Инфликсимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 51	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASGFIFS NHWMNWVRQS PEKGLEWVAE IRSKSINSAT HYAESVKGRF TISRDDSKSA VYLQMTDLRT EDTGVYYCSR NYYGSTYDYW GQGTTLTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCD *+/- KTHT (KTHL) +/- CPPCPA +/-PELLGGPSVFL*
Инфликсимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 52	DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSCRASQFVG SSIHWYQQRT NGSPRLLIKY ASESMSGIPS RFSGSGSGTD FTLSINTVES EDIADYYCQQ SHSWPFTFGS GTNLEVKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC

aTAU	Тяжелая/ SEQ ID NO: 53	EVKVVESGGG LVQPGGSMKL SCVVSGFTFS NYWVNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYEESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNNLRA EDSGIYYCTN WEDYWGQGTT VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTKTYTCNV DHKPSNTKVD KRVESKY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
aTAU	Легкая/ SEQ ID NO: 54	DIVLTQSPDS LAVSLGERAT ISCRASQSVS TSRYSYIHWY QQKPGQPPKL LIKYASNLES GVPSRFSGSG SGTDFTLNIH PLEPEDFATY YCHHSWEIPL TFGQGTKLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
Эренумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 55	QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAV ISFDGSIKYS VDSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCARDR LNYYDSSGYY HYKYYGMAVW GQGTTVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVER KCCVE +/- CPPCPA +/-PPVAG
Эренумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 56	QSVLTQPPSV SAAPGQKVTI SCSGSSSNIG NNYVSWYQQL PGTAPKLLIY DNNKRPSGIP DRFSGSKSGT STTLGITGLQ TGDEADYYCG TWDSRLSAVV FGGGTKLTVL GQPKANPTVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADGSPVK AGVETTKPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
BAN2401	Тяжелая/ SEQ ID NO: 57	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCSASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY ISSGSSTIYY GDTVKGRFTI SRDNAKNSLF LQMSSLRAED TAVYYCAREG GYYYGRSYYT MDYWGQGTTV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCD +/- KTHT (KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGG
BAN2401	Легкая/ SEQ ID NO: 58	DVVMTQSPLS LPVTPGAPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLRI SRVEAEDVGI YYCFQGSHVP PTFGPGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
E06-scFV	Тяжелая/ SEQ ID NO: 59	EVKLVESGGG LVQPGGSLRL SCATSGFTFS DFYMEWVRQA PGKRLEWIAA SRNKANDYTT EYADSVKGRF IVSRDTSQSI LYLQMNALRA EDTAIYYCAR DYYGSSYWYF DVWGAGTTVT VSS
E06-scFV	Легкая/ SEQ ID NO: 60	DIVMTQSPSS LSVSAGKKVT ISCTASESLY SSKHKVHYLA WYQKKPEQSP KLLIYGASNR YIGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQVEDLT HYYCAQFYSY PLTFGAGTKL EIK
AAVrh10	SEQ ID NO:80	MAADGYLPDW LEDNLSEGIR EWWDLKPGAP KPKANQQKQD DGRGLVLPGY KYLGPFNGLD KGEPVNAADA AALEHDKAYD QQLKAGDNPY LRYNHADAEF QERLQEDTSF GGNLGRAVFQ AKKRVLEPLG LVEEGAKTAP GKKRPVEPSP QRSPDSSTGI GKKGQQPAKK RLNFGQTGDS ESVPDPQPIG EPPAGPSGLG

		SGTMAAGGGA PMADNNEGAD GVGSSSGNWH CDSTWLGDRV ITTSTRTWAL PTYNNHLYKQ ISNGTSGGST NDNTYFGYST PWGYFDFNRF HCHFSPRDWQ RLINNNWGFR PKRLNFKLFN IQVKEVTQNE GTKTIANNLT STIQVFTDSE YQLPYVLGSA HQGCLPPFPA DVFMIPQYGY LTLNNGSQAV GRSSFYCLEY FPSQMLRTGN NFEFSYQFED VPFHSSYAHS QSLDRLMNPL IDQYLYYLSR TQSTGGTAGT QQLLFSQAGP NNMSAQAKNW LPGPCYRQQR VSTTLSQNNN SNFAWTGATK YHLNGRDSLV NPGVAMATHK DDEERFFPSS GVLMFGKQGA GKDNVDYSSV MLTSEEEIKT TNPVATEQYG VVADNLQQQN AAPIVGAVNS QGALPGMVWQ NRDVYLQGPI WAKIPHTDGN FHPSPLMGGF GLKHPPPQIL IKNTPVPADP PTTFSQAKLA SFITQYSTGQ VSVEIEWELQ KENSKRWNPE IQYTSNYYKS TNVDFAVNTD GTYSEPRPIG TRYLTRNL

ТАБЛИЦА 5. Таблица последовательностей нуклеиновых кислот фрагмента Fab

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Адуканумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO:101	gtgcagctgg tggagagcgg cggcggcgtg gtgcagcccg gcagaagcct gagactgagc tgcgccgcca gcggcttcgc cttcagcagc tacggcatgc actgggtgag acaggccccc ggcaagggcc tggagtgggt ggccgtgatc tggttcgacg gcaccaagaa gtactacacc gacagcgtga agggcagatt caccatcagc agagacaaca gcaagaacac cctgtacctg cagatgaaca ccctgagagc cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagaggc atcggcgcca gaagaggccc ctactacatg gacgtgtggg gcaagggcac caccgtgacc gtgagcagcg ccagcaccaa gggccccagc gtgttccccc tggcccccag cagcaagagc accagcggcg gcaccgccgc cctgggctgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg accgtgagct ggaacagcgg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgaccg tgcccagcag cagcctgggc acccagacct acatctgcaa cgtgaaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gtggagccca agagctgcga c +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Адуканумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 102	gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca gagccagcca gagcatcagc agctacctga actggtacca gcagaagccc ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag agctacagca cccccctgac cttcggcggc ggcaccaagg tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Кренезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 103	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacggca tgagctgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagct ggtggccagc atcaacagca acggcggcag cacctactac cccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acgccaagaa cagcctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagcggcgac tactggggcc agggcaccac cgtgaccgtg agcagcgcca gcaccaaggg ccccagcgtg ttccccctgg ccccctgcag cagaagcacc agcgagagca ccgccgccct gggctgcctg gtgaaggact acttccccga gcccgtgacc gtgagctgga acagcggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc cgtgctgcag agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc ccagcagcag cctgggcacc aagacctaca cctgcaacgt ggaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtg gagagcaagt ac +/- ggcccccccctgcccccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg
Кренезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 104	gacatcgtga tgacccagag ccccctgagc ctgcccgtga cccccggcga gcccgccagc atcagctgca gaagcagcca gagcctggtg tacagcaacg gcgacaccta cctgcactgg tacctgcaga agcccggcca gagcccccag ctgctgatct acaaggtgag caacagattc agcggcgtgc ccgacagatt cagcggcagc ggcagcggca ccgacttcac cctgaagatc agcagagtgg aggccgagga cgtgggcgtg tactactgca gccagagcac ccacgtgccc tggaccttcg gccagggcac caaggtggag atcaagagaa ccgtggccgc ccccagcgtg ttcatcttcc cccccagcga cgagcagctg aagagcggca ccgccagcgt ggtgtgcctg ctgaacaact tctaccccag agaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcaccc tgaccctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgag gtgacccacc agggcctgag cagccccgtg accaagagct tcaacagagg cgagtgc
Гантенерумаб	Тяжелая SEQ ID NO: 105	caggtggagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtgagcgcc atcaacgcca gcggcaccag aacctactac gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa caccctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaggcaag ggcaacaccc acaagcccta cggctacgtg agatacttcg acgtgtgggg ccagggcacc

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		ctggtgaccg tgagcagcgc cagcaccaag ggccccagcg tgttccccct ggcccccagc agcaagagca ccagcggcgg caccgccgcc ctgggctgcc tggtgaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgagctg gaacagcggc gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc ctgagcagcg tggtgaccgt gcccagcagc agcctgggca cccagaccta catctgcaac gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaagg tggagcccaa gagctgcgac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccctgccccgcc +/ ccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Гантенерумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 106	gacatcgtgc tgacccagag ccccgccacc ctgagcctga gccccggcga gagagccacc ctgagctgca gagccagcca gagcgtgagc agcagctacc tggcctggta ccagcagaag cccggccagg cccccagact gctgatctac ggcgccagca gcagagccac cggcgtgccc gccagattca gcggcagcgg cagcggcacc gacttcaccc tgaccatcag cagcctggag cccgaggact tcgccaccta ctactgcctg cagatctaca acatgcccat caccttcggc cagggcacca aggtggagat caagagaacc gtggccgccc ccagcgtgtt catcttcccc cccagcgacg agcagctgaa gagcggcacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc taccccagag aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagag cggcaacagc caggagagcg tgaccgagca ggacagcaag gacagcacct acagcctgag cagcaccctg accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaggt gacccaccag ggcctgagca gccccgtgac caagagcttc aacagaggcg agtgc
Дупилумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 107	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggagcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg gcagcggctt caccttcaga gactacgcca tgacctgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtgagcagc atcagcggca gcggcggcaa cacctactac gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa caccctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caaggacaga ctgagcatca ccatcagacc cagatactac ggcctggacg tgtggggcca gggcaccacc gtgaccgtga gcagcgccag caccaagggc cccagcgtgt tccccctggc cccctgcagc agaagcacca gcgagagcac cgccgccctg ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgagctggaa cagcggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcacca agacctacac ctgcaacgtg gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagtgg agagcaagtac +/- ggcccccccctgcccccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Дупилумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 108	gacatcgtga tgacccagag ccccctgagc ctgcccgtga ccccccggcga gcccgccagc atcagctgca gaagcagcca gagcctgctg tacagcatcg gctacaacta cctggactgg tacctgcaga agagcggcca gagcccccag ctgctgatct acctgggcag caacagagcc agcggcgtgc ccgacagatt cagcggcagc ggcagcggca ccgacttcac cctgaagatc agcagagtgg aggccgagga cgtgggcttc tactactgca tgcaggccct gcagaccccc tacaccttcg gccagggcac caagctggag atcaagagaa ccgtggccgc ccccagcgtg ttcatcttcc cccccagcga cgagcagctg aagagcggca ccgccagcgt ggtgtgcctg ctgaacaact tctaccccag agaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcaccc tgaccctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgag gtgacccacc agggcctgag cagccccgtg accaagagct tcaacagagg cgagtgc
Иксекизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 109	caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc ccggcagcag cgtgaaggtg agctgcaagg ccagcggcta cagcttcacc gactaccaca tccactgggt gagacaggcc cccggccagg gcctggagtg gatgggcgtg atcaacccca tgtacggcac caccgactac aaccagagat tcaagggcag agtgaccatc accgccgacg agagcaccag caccgcctac atggagctga gcagcctgag aagcgaggac accgccgtgt actactgcgc cagatacgac tacttcaccg gcaccggcgt gtactggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcgcc agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccctgca gcagaagcac cagcgagagc accgccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgagctgg aacagcggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac caagacctac acctgcaacg tggaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagagcaag tac +/- ggcccccccctgcccccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg
Иксекизумаб	Легкая/ SEQ ID NO:110	gacatcgtga tgacccagac ccccctgagc ctgagcgtga ccccccggcca gcccgccagc atcagctgca gaagcagcag aagcctggtg cacagcagag gcaacaccta cctgcactgg tacctgcaga agcccggcca gagcccccag ctgctgatct acaaggtgag caacagattc atcggcgtgc ccgacagatt cagcggcagc ggcagcggca ccgacttcac cctgaagatc agcagagtgg aggccgagga cgtgggcgtg tactactgca gccagagcac ccacctgccc ttcaccttcg gccagggcac caagctggag atcaagagaa ccgtggccgc ccccagcgtg ttcatcttcc cccccagcga cgagcagctg aagagcggca ccgccagcgt ggtgtgcctg ctgaacaact tctaccccag agaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggacagca

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		aggacagcac ctacagcctg agcagcaccc tgaccctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgag gtgacccacc agggcctgag cagccccgtg accaagagct tcaacagagg cgagtgc
Секукинумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 111	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc aactactgga tgaactgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtggccgcc atcaaccagg acggcagcga gaagtactac gtgggcagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acgccaagaa cagcctgtac ctgcagatga acagcctgag agtggaggac accgccgtgt actactgcgt gagagactac tacgacatcc tgaccgacta ctacatccac tactggtact tcgacctgtg gggcagaggc accctggtga ccgtgagcag cgccagcacc aagggcccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcaccgcc gccctgggct gcctggtgaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgag ctggaacagc ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagcag cggcctgtac agcctgagca gcgtggtgac cgtgcccagc agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagtggagcc caagagctgc gac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccctgccccgcc +/ ccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Секукинумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 112	gagatcgtgc tgacccagag ccccggcacc ctgagcctga gccccggcga gagagccacc ctgagctgca gagccagcca gagcgtgagc agcagctacc tggcctggta ccagcagaag cccggccagg cccccagact gctgatctac ggcgccagca gcagagccac cggcatcccc gacagattca gcggcagcgg cagcggcacc gacttcaccc tgaccatcag cagactggag cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagtacggca gcagcccctg caccttcggc cagggcacca gactggagat caagagaacc gtggccgccc ccagcgtgtt catcttcccc cccagcgacg agcagctgaa gagcggcacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc taccccagag aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagag cggcaacagc caggagagcg tgaccgagca ggacagcaag gacagcacct acagcctgag cagcaccctg accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaggt gacccaccag ggcctgagca gccccgtgac caagagcttc aacagaggcg agtgc
Устекинумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 113	gaggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc ccggcgagag cctgaagatc agctgcaagg gcagcggcta cagcttcacc acctactggc tgggctgggt gagacagatg cccggcaagg gcctggactg gatcggcatc atgagccccg tggacagcga catcagatac agccccagct tccagggcca ggtgaccatg agcgtggaca agagcatcac caccgcctac ctgcagtgga acagcctgaa ggccagcgac accgccatgt actactgcgc cagaagaaga cccggccagg gctacttcga

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		cttctggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagcagc agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcccccagca gcaagagcac cagcggcggc accgccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgagctgg aacagcggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag agctgcgac +/- aagacccaca cc (or aagacccacctg)+/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Устекинумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 114	gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca gagccagcca gggcatcagc agctggctgg cctggtacca gcagaagccc gagaaggccc ccaagagcct gatctacgcc gccagcagcc tgcagagcgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacatct acccctacac cttcggccag ggcaccaagc tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Меполизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 115	caggtgaccc tgagagagag cggccccgcc ctggtgaagc ccacccagac cctgaccctg acctgcaccg tgagcggctt cagcctgacc agctacagcg tgcactgggt gagacagccc cccggcaagg gcctggagtg gctgggcgtg atctgggcca gcggcggcac cgactacaac agcgccctga tgagcagact gagcatcagc aaggacacca gcagaaacca ggtggtgctg accatgacca acatggaccc cgtggacacc gccacctact actgcgccag agaccccccc agcagcctgc tgagactgga ctactggggc agaggcaccc ccgtgaccgt gagcagcgcc agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gcccccagca gcaagagcac cagcggcggc accgccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgagctgg aacagcggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt ggagcccaag agctgcgac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Меполизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 116	gacatcgtga tgacccagag ccccgacagc ctggccgtga gcctgggcga gagagccacc atcaactgca agagcagcca gagcctgctg aacagcggca accagaagaa ctacctggcc tggcagcaga agcccggcca gccccccaag ctgctgatct acggcgccag caccagagag agcggcgtgc ccgacagatt cagcggcagc ggcagcggca ccgacttcac cctgaccatc agcagcctgc aggccgagga cgtggccgtg tactactgcc agaacgtgca cagcttcccc ttcaccttcg gcggcggcac caagctggag atcaagagaa ccgtggccgc ccccagcgtg ttcatcttcc cccccagcga cgagcagctg aagagcggca ccgccagcgt ggtgtgcctg ctgaacaact tctaccccag agaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcaccc tgaccctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgag gtgacccacc agggcctgag cagccccgtg accaagagct tcaacagagg cgagtgc
Ведолизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 117	caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc ccggcgccag cgtgaaggtg agctgcaagg gcagcggcta caccttcacc agctactgga tgcactgggt gagacaggcc cccggccaga gactggagtg gatcggcgag atcgacccca gcgagagcaa caccaactac aaccagaagt tcaagggcag agtgaccctg accgtggaca tcagcgccag caccgcctac atggagctga gcagcctgag aagcgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaggcggc tacgacggct gggactacgc catcgactac tggggccagg gcaccctggt gaccgtgagc agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc ggcggcaccg ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg agctggaaca gcggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag cccaagagct gcgac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctggccggcgcccccagcgtgttcctg
Ведолизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 118	gacgtggtga tgacccagag ccccctgagc ctgcccgtga cccccggcga gcccgccagc atcagctgca gaagcagcca gagcctggcc aagagctacg gcaacaccta cctgagctgg tacctgcaga agcccggcca gagcccccag ctgctgatct acggcatcag caacagattc agcggcgtgc ccgacagatt cagcggcagc ggcagcggca ccgacttcac cctgaagatc agcagagtgg aggccgagga cgtgggcgtg tactactgcc tgcagggcac ccaccagccc tacaccttcg gccagggcac caaggtggag atcaagagaa ccgtggccgc ccccagcgtg ttcatcttcc cccccagcga cgagcagctg aagagcggca ccgccagcgt ggtgtgcctg ctgaacaact tctaccccag agaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcaccc tgaccctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgag gtgacccacc agggcctgag cagccccgtg accaagagct tcaacagagg cgagtgc
Натализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 119	caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc ccggcgccag cgtgaaggtg agctgcaagg ccagcggctt caacatcaag gacacctaca tccactgggt gagacaggcc cccggccaga gactggagtg gatgggcaga atcgaccccg ccaacggcta caccaagtac gaccccaagt tccagggcag agtgaccatc accgccgaca ccagcgccag caccgcctac atggagctga gcagcctgag aagcgaggac accgccgtgt actactgcgc cagagagggc tactacggca actacggcgt gtacgccatg gactactggg gccagggcac cctggtgacc gtgagcagcg ccagcaccaa gggccccagc gtgttccccc tggccccctg cagcagaagc accagcgaga gcaccgccgc cctgggctgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg accgtgagct ggaacagcgg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgaccg tgcccagcag cagcctgggc accaagacct acacctgcaa cgtggaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gtggagagca agtac +/- ggcccccccctgcccccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg
Натализумаб	Легкая\ SEQ ID NO: 120	gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca agaccagcca ggacatcaac aagtacatgg cctggtacca gcagaccccc ggcaaggccc ccagactgct gatccactac accagcgccc tgcagcccgg catccccagc agattcagcg gcagcggcag cggcagagac tacaccttca ccatcagcag cctgcagccc gaggacatcg ccacctacta ctgcctgcag tacgacaacc tgtggacctt cggccagggc accaaggtgg agatcaagag aaccgtggcc gcccccagcg tgttcatctt cccccccagc gacgagcagc tgaagagcgg caccgccagc gtggtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc agagaggcca aggtgcagtg gaaggtggac aacgccctgc agagcggcaa cagccaggag agcgtgaccg agcaggacag caaggacagc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa gcacaaggtg tacgcctgcg aggtgaccca ccagggcctg agcagccccg tgaccaagag cttcaacaga ggcgagtgc
Алирокумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 121	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcaac aactacgcca tgaactgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggactg ggtgagcacc atcagcggca gcggcggcac caccaactac gccgacagcg tgaagggcag attcatcatc agcagagaca gcagcaagca caccctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caaggacagc aactggggca acttcgacct gtggggcaga ggcaccctgg tgaccgtgag cagcgccagc

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		accaagggcc ccagcgtgtt ccccctggcc cccagcagca agagcaccag cggcggcacc gccgccctgg gctgcctggt gaaggactac ttccccgagc ccgtgaccgt gagctggaac agcggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccccgccg tgctgcagag cagcggcctg tacagcctga gcagcgtggt gaccgtgccc agcagcagcc tgggcaccca gacctacatc tgcaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaggtgga gcccaagagc tgcgac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Алирокумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 122	gacatcgtga tgacccagag ccccgacagc ctggccgtga gcctgggcga gagagccacc atcaactgca agagcagcca gagcgtgctg tacagaagca acaacagaaa cttcctgggc tggtaccagc agaagcccgg ccagcccccc aacctgctga tctactgggc cagcaccaga gagagcggcg tgcccgacag attcagcggc agcggcagcg gcaccgactt caccctgacc atcagcagcc tgcaggccga ggacgtggcc gtgtactact gccagcagta ctacaccacc ccctacacct tcggccaggg caccaagctg gagatcaaga gaaccgtggc cgcccccagc gtgttcatct tcccccccag cgacgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtggtgtgc ctgctgaaca acttctaccc cagagaggcc aaggtgcagt ggaaggtgga caacgccctg cagagcggca acagccagga gagcgtgacc gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctgagcagca ccctgaccct gagcaaggcc gactacgaga agcacaaggt gtacgcctgc gaggtgaccc accagggcct gagcagcccc gtgaccaaga gcttcaacag aggcgagtgc
Эволокумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 123	gaggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc ccggcgccag cgtgaaggtg agctgcaagg ccagcggcta caccctgacc agctacggca tcagctgggt gagacaggcc cccggccagg gcctggagtg gatgggctgg gtgagcttct acaacggcaa caccaactac gcccagaagc tgcagggcag aggcaccatg accaccgacc ccagcaccag caccgcctac atggagctga gaagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagaggctac ggcatggacg tgtggggcca gggcaccacc gtgaccgtga gcagcgccag caccaagggc cccagcgtgt tccccctggc cccctgcagc agaagcacca gcgagagcac cgccgccctg ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgagctggaa cagcggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcaac ttcggcaccc agacctacac ctgcaacgtg gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaccgtgg agagaaagtg ctgcgtggag +/- tgcccccccctgccccgcc +/- ccccccgtggccggc
Эволокумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 124	gagagcgccc tgacccagcc cgccagcgtg agcggcagcc ccggccagag catcaccatc agctgcaccg gcaccagcag cgacgtgggc ggctacaaca gcgtgagctg gtaccagcag

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		caccccggca aggcccccaa gctgatgatc tacgaggtga gcaacagacc cagcggcgtg agcaacagat tcagcggcag caagagcggc aacaccgcca gcctgaccat cagcggcctg caggccgagg acgaggccga ctactactgc aacagctaca ccagcaccag catggtgttc ggcggcggca ccaagctgac cgtgctgggc cagcccaagg ccgcccccag cgtgaccctg ttccccccca gcagcgagga gctgcaggcc aacaaggcca ccctggtgtg cctgatcagc gacttctacc ccggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg acagcagccc cgtgaaggcc ggcgtggaga ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca agtacgccgc cagcagctac ctgagcctga cccccgagca gtggaagagc cacagaagct acagctgcca ggtgacccac gagggcagca ccgtggagaa gaccgtggcc cccaccgagt gcagc
Эвинакумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 125	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc gtgatccagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgaactgggt gagacagggc cccggcaagg gcctggagtg ggtgagcgcc atcagcggcg acggcggcag cacctactac gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa cagcctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccttct tctactgcgc caaggacctg agaaacacca tcttcggcgt ggtgatcccc gacgccttcg acatctgggg ccagggcacc atggtgaccg tgagcagcgc cagcaccaag ggccccagcg tgttccccct ggccccctgc agcagaagca ccagcgagag caccgccgcc ctgggctgcc tggtgaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgagctg gaacagcggc gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc ctgagcagcg tggtgaccgt gcccagcagc agcctgggca ccaagaccta cacctgcaac gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag tggagagcaa gtacggcccc ccc +/- tgcccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg
Эвинакумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 126	gacatccaga tgacccagag ccccagcacc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca gagccagcca gagcatcaga agctggctgg cctggtacca gcagaagccc ggcaaggccc ccaagctgct gatctacaag gccagcagcc tggagagcgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgag ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gacgacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacagct acagctacac cttcggccag ggcaccaagc tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Деносумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 127	gaggtgcagc tgctggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtgagcggc atcaccggca gcggcggcag cacctactac gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa caccctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caaggacccc ggcaccaccg tgatcatgag ctggttcgac ccctggggcc agggcaccct ggtgaccgtg agcagcgcca gcaccaaggg ccccagcgtg ttccccctgg cccccagcag caagagcacc agcggcggca ccgccgccct gggctgcctg gtgaaggact acttccccga gcccgtgacc gtgagctgga acagcggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc cgtgctgcag agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc ccagcagcag cctgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaggtg gagcccaaga gctgcgac +/- aagacccacacc (aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Деносумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 128	gagatcgtgc tgacccagag ccccggcacc ctgagcctga gccccggcga gagagccacc ctgagctgca gagccagcca gagcgtgaga ggcagatacc tggcctggta ccagcagaag cccggccagg cccccagact gctgatctac ggcgccagca gcagagccac cggcatcccc gacagattca gcggcagcgg cagcggcacc gacttcaccc tgaccatcag cagactggag cccgaggact tcgccgtgtt ctactgccag cagtacggca gcagccccag aaccttcggc cagggcacca aggtggagat caagagaacc gtggccgccc ccagcgtgtt catcttcccc cccagcgacg agcagctgaa gagcggcacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc taccccagag aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagag cggcaacagc caggagagcg tgaccgagca ggacagcaag gacagcacct acagcctgag cagcaccctg accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaggt gacccaccag ggcctgagca gccccgtgac caagagcttc aacagaggcg agtgc
Ниволумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 129	caggtgcagc tggtggagag cggcggcggc gtggtgcagc ccggcagaag cctgagactg gactgcaagg ccagcggcat caccttcagc aacagcggca tgcactgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtggccgtg atctggtacg acggcagcaa gagatactac gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa caccctgttc ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caccaacgac gactactggg gccagggcac cctggtgacc gtgagcagcg ccagcaccaa gggccccagc gtgttccccc tggccccctg cagcagaagc accagcgaga

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		gcaccgccgc cctgggctgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg accgtgagct ggaacagcgg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgaccg tgcccagcag cagcctgggc accaagacct acacctgcaa cgtggaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gtggagagca agtac +/- ggcccccccctgcccccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg
Ниволумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 130	gagatcgtgc tgacccagag ccccgccacc ctgagcctga gccccggcga gagagccacc ctgagctgca gagccagcca gagcgtgagc agctacctgg cctggtacca gcagaagccc ggccaggccc ccagactgct gatctacgac gccagcaaca gagccaccgg catccccgcc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctggagccc gaggacttcg ccgtgtacta ctgccagcag agcagcaact ggcccagaac cttcggccag ggcaccaagg tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Пембролизумаб	Тяжелая /SEQ ID NO: 131	caggtgcagc tggtgcagag cggcgtggag gtgaagaagc ccggcgccag cgtgaaggtg agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc aactactaca tgtactgggt gagacaggcc cccggccagg gcctggagtg gatgggcggc atcaacccca gcaacggcgg caccaacttc aacgagaagt tcaagaacag agtgaccctg accaccgaca gcagcaccac caccgcctac atggagctga agagcctgca gttcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagaagagac tacagattcg acatgggctt cgactactgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc gccagcacca agggccccag cgtgttcccc ctggcccccct gcagcagaag caccagcgag agcaccgccg ccctgggctg cctggtgaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgagc tggaacagcg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcagc ggcctgtaca gcctgagcag cgtggtgacc gtgcccagca gcagcctggg caccaagacc tacacctgca acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agtggagagc aagtac +/- ggcccccccctgcccccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg
Пембролизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 132	gagatcgtgc tgacccagag ccccgccacc ctgagcctga gccccggcga gagagccacc ctgagctgca gagccagcaa gggcgtgagc accagcggct acagctacct gcactggtac cagcagaagc ccggccaggc ccccagactg ctgatctacc tggccagcta cctggagagc ggcgtgcccg ccagattcag

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		cggcagcggc agcggcaccg acttcaccct gaccatcagc agcctggagc ccgaggactt cgccgtgtac tactgccagc acagcagaga cctgcccctg accttcggcg gcggcaccaa ggtggagatc aagagaaccg tggccgcccc cagcgtgttc atcttccccc ccagcgacga gcagctgaag agcggcaccg ccagcgtggt gtgcctgctg aacaacttct accccagaga ggccaaggtg cagtggaagg tggacaacgc cctgcagagc ggcaacagcc aggagagcgt gaccgagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctgagc agcaccctga ccctgagcaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgcgaggtg acccaccagg gcctgagcag ccccgtgacc aagagcttca acagaggcga gtgc
Ранибизумаб	Тяжелая /SEQ ID NO: 133	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggcta cgacttcacc cactacggca tgaactgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtgggctgg atcaacacct acaccggcga gcccacctac gccgccgact tcaagagaag attcaccttc agcctggaca ccagcaagag caccgcctac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagtacccc tactactacg gcaccagcca ctggtacttc gacgtgtggg gccagggcac cctggtgacc gtgagcagcg ccagcaccaa gggccccagc gtgttccccc tggcccccag cagcaagagc accagcggcg gcaccgccgc cctgggctgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg accgtgagct ggaacagcgg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgaccg tgcccagcag cagcctgggc acccagacct acatctgcaa cgtgaaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaggtggagcccaagagctgcgac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Ранибизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 134	gacatccagc tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca gcgccagcca ggacatcagc aactacctga actggtacca gcagaagccc ggcaaggccc ccaaggtgct gatctacttc accagcagcc tgcacagcgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacagcaccg tgccctggac cttcggccag ggcaccaagg tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Бевацизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 135	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggcta caccttcacc aactacggca tgaactgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtgggctgg atcaacacct acaccggcga gcccacctac gccgccgact tcaagagaag attcaccttc agcctggaca ccagcaagag caccgcctac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagtacccc cactactacg gcagcagcca ctggtacttc gacgtgtggg gccagggcac cctggtgacc gtgagcagcg ccagcaccaa gggccccagc gtgttccccc tggcccccag cagcaagagc accagcggcg gcaccgccgc cctgggctgc ctggtgaagg actacttccc cgagcccgtg accgtgagct ggaacagcgg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc cgccgtgctg cagagcagcg gcctgtacag cctgagcagc gtggtgaccg tgcccagcag cagcctgggc acccagacct acatctgcaa cgtgaaccac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaag gtggagccca agagctgcga c +/- aagacccacacc (aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Бевацизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 136	gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca gcgccagcca ggacatcagc aactacctga actggtacca gcagaagccc ggcaaggccc ccaaggtgct gatctacttc accagcagcc tgcacagcgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacagcaccg tgccctggac cttcggccag ggcaccaagg tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Лампализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 137	gaggtgcagc tggtgcagag cggccccgag ctgaagaagc ccggcgccag cgtgaaggtg agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc aactacggca tgaactgggt gagacaggcc cccggccagg gcctggagtg gatgggctgg atcaacacct acaccggcga gaccacctac gccgacgact tcaagggcag attcgtgttc agcctggaca ccagcgtgag caccgcctac ctgcagatca gcagcctgaa ggccgaggac accgccgtgt actactgcga gagagagggc ggcgtgaaca actggggcca gggcaccctg gtgaccgtga gcagcgccag caccaagggc cccagcgtgt tccccctggc ccccagcagc aagagcacca gcggcggcac cgccgccctg ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgagctggaa cagcggcgcc

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaagag ctgcgac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Лампализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 138	gacatccagg tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca tcaccagcac cgacatcgac gacgacatga actggtacca gcagaagccc ggcaaggtgc ccaagctgct gatcagcggc ggcaacaccc tgagacccgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gaggacgtgg ccacctacta ctgcctgcag agcgacagcc tgccctacac cttcggccag ggcaccaagg tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Бролуцизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 139	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcaccg ccagcggctt cagcctgacc gactactact acatgacctg ggtgagacag gcccccggca agggcctgga gtgggtgggc ttcatcgacc ccgacgacga cccctactac gccacctggg ccaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa caccctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc cggcggcgac cacaacagcg gctggggcct ggacatctgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc
Бролуцизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 140	gagatcgtga tgacccagag ccccagcacc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgatc atcacctgcc aggccagcga gatcatccac agctggctgg cctggtacca gcagaagccc ggcaaggccc ccaagctgct gatctacctg gccagcaccc tggccagcgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcgccgag ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gacgacttcg ccacctacta ctgccagaac gtgtacctgg ccagcaccaa cggcgccaac ttcggccagg gcaccaagct gaccgtgctg ggc
Белимумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 141	caggtgcagc tgcagcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgcgcgtg agctgcaaag cgagcggcgg cacctttaac aacaacgcga ttaactgggt gcgccaggcg ccgggccagg gcctggaatg gatgggcggc attattccga tgtttggcac cgcgaaatat agccagaact ttcagggccg cgtggcgatt accgcggatg aaagcaccgg caccgcgagc atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		attattgcgc gcgcagccgc gatctgctgc tgtttccgca tcatgcgctg agcccgtggg gccgcggcac catggtgacc gtgagcagcg cgagcaccaa aggcccgagc gtgtttccgc tggcgccgag cagcaaaagc accagcggcg gcaccgcggc gctgggctgc ctggtgaaag attattttcc ggaaccggtg accgtgagca acagcggcgc gctgaccagc ggcgtgcata cctttccggc ggtgctgcag agcagcggcc tgtatagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc cgagcagcag cctgggcacc cagacctata tttgcaacgt gaaccataaa ccgagcaaca ccaaagtgga taaaaaagtg gaaccgaaaagctgcgat+/- aaaacccatacc (or aaaacccatctg) +/- tgcccgccgtgcccggcg +/- ccggaactgctgggcggcccgagcgtgtttctg
Белимумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 142	agcagcgaac tgacccagga tccggcggtg agcgtggcgc tgggccagac cgtgcgcgtg acctgccagg gcgatagcct gcgcagctat tatgcgagct ggtatcagca gaaaccgggc caggcgccgg tgctggtgat ttatggcaaa aacaaccgcc cgagcggcat tccggatcgc tttagcggca gcagcagcgg caacaccgcg agcctgacca ttaccggcgc gcaggcggaa gatgaagcgg attattattg cagcagccgc gatagcagcg gcaaccattg ggtgtttggc ggcggcaccg aactgaccgt gctgggccag ccgaaagcgg cgccgagcgt gaccctgttt ccgccgagca gcgaagaact gcaggcgaac aaagcgaccc tggtgtgcct gattagcgat ttttatccgg gcgcggtgac cgtggcgtgg aaagcggata gcagcccggt ggcgggcgtg gaaaccacca ccccgagcaa acagagcaac aacaaatatg cggcgagcag ctatctgagc ctgaccccgg aacagtggaa aagccatcgc agctatagct gccaggtgac ccatgaaggc agcaccgtgg aaaaaaccgt ggcgccgacc gaatgcagc
Экулизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 143	caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc ccggcgccag cgtgaaggtg agctgcaagg ccagcggcta catcttcagc aactactgga tccagtgggt gagacaggcc cccggccagg gcctggagtg gatgggcgag atcctgcccg gcagcggcag caccgagtac accgagaact tcaaggacag agtgaccatg accagagaca ccagcaccag caccgtgtac atggagctga gcagcctgag aagcgaggac accgccgtgt actactgcgc cagatacttc ttcggcagca gccccaactg gtacttcgac gtgtggggcc agggcaccct ggtgaccgtg agcagcgcca gcaccaaggg ccccagcgtg ttccccctgg ccccctgcag cagaagcacc agcgagagca ccgccgccct gggctgcctg gtgaaggact acttccccga gcccgtgacc gtgagctgga acagcggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc cgtgctgcag agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc ccagcagcaa cttcggcacc cagacctaca cctgcaacgt ggaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaccgtg gagagaaagt gctgcgtgga g +/- tgcccccccctgccccgcc +/- ccccccgtggccggc

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Экулизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 144	gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgcg gcgccagcga gaacatctac ggcgccctga actggtacca gcagaagccc ggcaaggccc ccaagctgct gatctacggc gccaccaacc tggccgacgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gaggacttcg ccacctacta ctgccagaac gtgctgaaca ccccccctgac cttcggccag ggcaccaagg tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Андекаликсиматаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 145	caggtgcagc tgcaggagag cggccccggc ctggtgaagc ccagcgagac cctgagcctg acctgcaccg tgagcggctt cagcctgctg agctacggcg tgcactgggt gagacagccc cccggcaagg gcctggagtg gctgggcgtg atctggaccg gcggcaccac caactacaac agcgccctga tgagcagatt caccatcagc aaggacgaca gcaagaacac cgtgtacctg aagatgaaca gcctgaagac cgaggacacc gccatctact actgcgccag atactactac ggcatggact actggggcca gggcaccctg gtgaccgtga gcagcgccag caccaagggc cccagcgtgt tccccctggc cccctgcagc agaagcacca gcgagagcac cgccgccctg ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgagctggaa cagcggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcacca agacctacac ctgcaacgtg gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagtgg agagcaagta c +/- ggcccccccctgcccccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg
Андекаликсиматаб	Легкая/ SEQ ID NO: 146	gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca aggccagcca ggacgtgaga aacaccgtgg cctggtacca gcagaagccc ggcaaggccc ccaagctgct gatctacagc agcagctaca gaaacaccgg cgtgcccgac agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcaggcc gaggacgtgg ccgtgtacta ctgccagcag cactacatca ccccctacac cttcggcggc ggcaccaagg tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Ланаделумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 147	gaggtgcagc tgctggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc cactacatca tgatgtgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtgagcggc atctacagca gcggcggcat caccgtgtac gccgacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa caccctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc ctacagaaga atcggcgtgc ccagaagaga cgagttcgac atctggggcc agggcaccat ggtgaccgtg agcagcgcca gcaccaaggg ccccagcgtg ttccccctgg cccccagcag caagagcacc agcggcggca ccgccgccct gggctgcctg gtgaaggact acttccccga gcccgtgacc gtgagctgga acagcggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc cgtgctgcag agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg gtgaccgtgc ccagcagcag cctgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtg gagcccaaga gctgcgac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Ланаделумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 148	gacatccaga tgacccagag ccccagcacc ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc atcacctgca gagccagcca gagcatcagc agctggctgg cctggtacca gcagaagccc ggcaaggccc ccaagctgct gatctacaag gccagcaccc tggagagcgg cgtgcccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgag ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gacgacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacacct actggacctt cggccagggc accaaggtgg agatcaagag aaccgtggcc gcccccagcg tgttcatctt cccccccagc gacgagcagc tgaagagcgg caccgccagc gtggtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc agagaggcca aggtgcagtg gaaggtggac aacgccctgc agagcggcaa cagccaggag agcgtgaccg agcaggacag caaggacagc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa gcacaaggtg tacgcctgcg aggtgaccca ccagggcctg agcagccccg tgaccaagag cttcaacaga ggcgagtgc
Адалимумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 149	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcagaag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcgac gactacgcca tgcactgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtgagcgcc atcacctgga acagcggcca catcgactac gccgacagcg tggagggcag attcaccatc agcagagaca acgccaagaa cagcctgtac ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc caaggtgagc tacctgagca ccgccagcag cctggactac tggggccagg gcaccctggt gaccgtgagc agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		ccagcagcaa gagcaccagc ggcggcaccg ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg agctggaaca gcggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgccca gcagcagcct gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggag cccaagagct gcgac +/- aagacccacacc (aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- ccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Адалимумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 150	agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc gaggacgtgg ccacctacta ctgccagaga tacaacagag ccccctacac cttcggccag ggcaccaagg tggagatcaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
Инфликсимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 151	gaggtgaagc tggaggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag catgaagctg agctgcgtgg ccagcggctt catcttcagc aaccactgga tgaactgggt gagacagagc cccgagaagg gcctggagtg ggtggccgag atcagaagca agagcatcaa cagcgccacc cactacgccg agagcgtgaa gggcagattc accatcagca gagacgacag caagagcgcc gtgtacctgc agatgaccga cctgagaacc gaggacaccg gcgtgtacta ctgcagcaga aactactacg gcagcaccta cgactactgg ggccagggca ccaccctgac cgtgagcagc gccagcacca agggccccag cgtgttcccc ctggccccca gcagcaagag caccagcggc ggcaccgccg ccctgggctg cctggtgaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgagc tggaacagcg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcagc ggcctgtaca gcctgagcag cgtggtgacc gtgcccagca gcagcctggg cacccagacc tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc aagagctgcg ac +/- aagacccacacc (aagacccacctg) +/- tgcccccccctgccccgcc +/- cccgagctgctgggcggccccagcgtgttcctg
Инфликсимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 152	gacatcctgc tgacccagag ccccgccatc ctgagcgtga gccccggcga gagagtgagc ttcagctgca gagccagcca gttcgtgggc agcagcatcc actggtacca gcagagaacc aacggcagcc ccagactgct gatcaagtac gccagcgaga gcatgagcgg catccccagc agattcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga gcatcaacac cgtggagagc gaggacatcg ccgactacta ctgccagcag agccacagct

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		ggcccttcac cttcggcagc ggcaccaacc tggaggtgaa gagaaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc ctgagcagcc ccgtgaccaa gagcttcaac agaggcgagt gc
aTAU	Тяжелая/ SEQ ID NO: 153	gaggtgaagg tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag catgaagctg agctgcgtgg tgagcggctt caccttcagc aactactggg tgaactgggt gaggcaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtggcccag atcaggctga agagcgacaa ctacgccacc cactacgagg agagcgtgaa gggcaggttc accatcagca gggacgacag caagagcagc gtgtacctgc agatgaacaa cctgagggcc gaggacagcg gcatctacta ctgcaccaac tgggaggact actggggcca gggcaccacc gtgaccgtga gcagcgccag caccaagggc cccagcgtgt tccccctggc cccctgcagc aggagcacca gcgagagcac cgccgccctg ggctgcctgg tgaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgagctggaa cagcggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct gtacagcctg agcagcgtgg tgaccgtgcc cagcagcagc ctgggcacca agacctacac ctgcaacgtg gaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagggtgg agagcaagta c +/- ggcccccccctgcccccccctgccccgcc +/- cccgagttcctgggcggccccagcgtgttcctg
aTAU	Легкая/ SEQ ID NO: 154	gacatcgtgc tgacccagag ccccgacagc ctggccgtga gcctgggcga gagggccacc atcagctgca gggccagcca gagcgtgagc accagcaggt acagctacat ccactggtac cagcagaagc ccggccagcc ccccaagctg ctgatcaagt acgccagcaa cctggagagc ggcgtgccca gcaggttcag cggcagcggc agcggcaccg acttcaccct gaacatccac cccctggagc ccgaggactt cgccacctac tactgccacc acagctggga gatccccctg accttcggcc agggcaccaa gctggagatc aagaggaccg tggccgcccc cagcgtgttc atcttccccc ccagcgacga gcagctgaag agcggcaccg ccagcgtggt gtgcctgctg aacaacttct accccaggga ggccaaggtg cagtggaagg tggacaacgc cctgcagagc ggcaacagcc aggagagcgt gaccgagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctgagc agcaccctga ccctgagcaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgcgaggtg acccaccagg gcctgagcag ccccgtgacc aagagcttca acaggggcga gtgc
Эренумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 155	caggtgcagc tggtggagag cggcggcggc gtggtgcagc ccggcagaag cctgagactg agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc agcttcggca tgcactgggt gagacaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtggccgtg atcagcttcg

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		acggcagcat caagtacagc gtggacagcg tgaagggcag attcaccatc agcagagaca acagcaagaa caccctgttc ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagagacaga ctgaactact acgacagcag cggctactac cactacaagt actacggcat ggccgtgtgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgagcagc gccagcacca agggccccag cgtgttcccc ctggccccct gcagcagaag caccagcgag agcaccgccg ccctgggctg cctggtgaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgagc tggaacagcg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcagc ggcctgtaca gcctgagcag cgtggtgacc gtgcccagca gcaacttcgg cacccagacc tacacctgca acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac cgtggagaga aagtgctgcgt ggagtgcccc ccctgcccc gcccccccg tggccggc
Эренумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 156	cagagcgtgc tgacccagcc ccccagcgtg agcgccgccc ccggccagaa ggtgaccatc agctgcagcg gcagcagcag caacatcggc aacaactacg tgagctggta ccagcagctg cccggcaccg cccccaagct gctgatctac gacaacaaca agagacccag cggcatcccc gacagattca gcggcagcaa gagcggcacc agcaccaccc tgggcatcac cggcctgcag accggcgacg aggccgacta ctactgcggc acctgggaca gcagactgag cgccgtggtg ttcggcggcg gcaccaagct gaccgtgctg ggccagccca aggccaaccc caccgtgacc ctgttccccc ccagcagcga ggagctgcag gccaacaagg ccaccctggt gtgcctgatc agcgacttct accccggcgc cgtgaccgtg gcctggaagg ccgacggcag ccccgtgaag gccggcgtgg agaccaccaa gcccagcaag cagagcaaca acaagtacgc cgccagcagc tacctgagcc tgacccccga gcagtggaag agccacagaa gctacagctg ccaggtgacc cacgagggca gcaccgtgga gaagaccgtg gcccccaccg agtgcagc
BAN2401	Тяжелая/ SEQ ID NO: 157	gaggtgcagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgaggctg agctgcagcg ccagcggctt caccttcagc agcttcggca tgcactgggt gaggcaggcc cccggcaagg gcctggagtg ggtggcctac atcagcagcg gcagcagcac catctactac ggcgacaccg tgaagggcag gttcaccatc agcagggaca acgccaagaa cagcctgttc ctgcagatga gcagcctgag ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagggagggc ggctactact acggcaggag ctactacacc atggactact ggggccaggg caccaccgtg accgtgagca gcgccagcac caagggcccc agcgtgttcc ccctggcccc cagcagcaag agcaccagcg gcggcaccgc cgccctgggc tgcctggtga aggactactt ccccgagccc gtgaccgtga gctggaacag cggcgccctg accagcggcg tgcacacctt ccccgccgtg ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc agcgtggtga ccgtgcccag cagcagcctg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		aaggtggagcccaagagctgcgac +/- aagacccacacc (or aagacccacctg) +/- tgcccccctgccccgcc +/ ccgagctgctgggcggc
BAN2401	Легкая/ SEQ ID NO: 158	gacgtggtga tgacccagag ccccctgagc ctgcccgtga cccccggcgc ccccgccagc atcagctgca ggagcagcca gagcatcgtg cacagcaacg gcaacaccta cctggagtgg tacctgcaga agcccggcca gagccccaag ctgctgatct acaaggtgag caacaggttc agcggcgtgc ccgacaggtt cagcggcagc ggcagcggca ccgacttcac cctgaggatc agcagggtgg aggccgagga cgtgggcatc tactactgct tccagggcag ccacgtgccc cccaccttcg gccccggcac caagctggag atcaagagga ccgtggccgc ccccagcgtg ttcatcttcc cccccagcga cgagcagctg aagagcggca ccgccagcgt ggtgtgcctg ctgaacaact tctaccccag ggaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcaccc tgaccctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgag gtgacccacc agggcctgag cagccccgtg accaagagct tcaacagggg cgagtgc
E06-scFV	Тяжелая/ SEQ ID NO: 159	gaggtgaagc tggtggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgaggctg agctgcgcca ccagcggctt caccttcagc gacttctaca tggagtgggt gaggcaggcc cccggcaaga ggctggagtg gatcgccgcc agcaggaaca aggccaacga ctacaccacc gagtacgccg acagcgtgaa gggcaggttc atcgtgagca gggacaccag ccagagcatc ctgtacctgc agatgaacgc cctgagggcc gaggacaccg ccatctacta ctgcgccagg gactactacg gcagcagcta ctggtacttc gacgtgtggg gcgccggcac caccgtgacc gtgagcagc
E06-scFV	Легкая/ SEQ ID NO: 160	gacatcgtga tgacccagag ccccagcagc ctgagcgtga gcgccggcaa gaaggtgacc atcagctgca ccgccagcga gagcctgtac agcagcaagc acaaggtgca ctacctggcc tggtaccaga agaagcccga gcagagcccc aagctgctga tctacggcgc cagcaacagg tacatcggcg tgcccgacag gttcaccggc agcggcagcg gcaccgactt caccctgacc atcagcagcg tgcaggtgga ggacctgacc cactactact gcgcccagtt ctacagctac cccctgacct tcggcgccgg caccaagctg gagatcaag

ЭКВИВАЛЕНТЫ

[490] Хотя настоящее изобретение подробно описано со ссылкой на его конкретные варианты осуществления, следует понимать, что варианты, которые являются функционально эквивалентными, находятся в пределах объема настоящего изобретения. Действительно, различные модификации настоящего изобретения в дополнение к тем, которые показаны и описаны в настоящем документе, станут очевидными для специалистов

в настоящей области техники из предшествующего описания и сопровождающих графических материалов. Такие модификации предназначены для попадания в объем прилагаемой формулы изобретения. Специалисты в настоящей области техники распознают или смогут установить, используя не более чем обычные эксперименты, множество эквивалентов описанных в настоящем документе конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения. Такие эквиваленты предназначены для охвата следующей формулой изобретения.

[491] Все публикации, патенты и патентные заявки, указанные в настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки в описание в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент специально и отдельно указывались для полного включения в настоящий документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения болезни Альцгеймера, мигреней, кластерных головных болей или таупатий, включая в себя хроническую травматическую энцефалопатию, прогрессирующий надъядерный паралич и лобно-височную деменцию у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор аденоассоциированного вируса (AAV), содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 78) или AAVrh10 (SEQ ID NO: 80), и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к амилоиду бета, к тау или к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека;

причем указанный вектор AAV составлен для интратекального введения в ЦНС указанного субъекта.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, в которой mAb к амилоиду β представляет собой адуканумаб, кренезумаб, BAN2401 или гантенерумаб, а mAb к тау представляет собой aTAU, а к CGRPR представляет собой эренумаб, эптинезумаб, фреманезумаб или галканезумаб.

3. Фармацевтическая композиция для лечения псориаза, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита или болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к IL17A или к IL12/IL23 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или в мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

4. Фармацевтическая композиция по п. 3, в которой mAb к IL17A или к IL12/IL23 представляет собой иксекизумаб, секукинумаб или устекинумаб.

5. Фармацевтическая композиция для лечения рассеянного склероза, язвенного колита или болезни Крона у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79) или AAVrh10 (SEQ ID NO: 80); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к интегрину или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека, мышечных клетках человека или клетках ЦНС человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта или для интратекального введения в ЦНС указанного субъекта.

6. Фармацевтическая композиция по п. 5, в которой mAb к интегрину представляет собой ведолизумаб или натализумаб.

7. Фармацевтическая композиция для лечения атопического дерматита у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к IL4R или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

8. Фармацевтическая композиция по п. 7, в которой mAb к IL-4R представляет собой дупилумаб.

9. Фармацевтическая композиция для лечения астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к IL-5 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

10. Фармацевтическая композиция по п. 9, в которой mAb к IL-5 представляет собой меполизумаб.

11. Фармацевтическая композиция для лечения HeFH, HoFH, дислипидемии, сердечно-сосудистого заболевания, включая атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (ACD), образование атеросклеротических бляшек, аномально высокие уровни не-HDL холестерина и LDL, аортальный стеноз, стеноз печени или гиперхолестеринемию у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к PCSK9, к ANGPTL3, к OxPL или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более

регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

12. Фармацевтическая композиция по п. 11, в которой mAb к PCSK9 или к ANGPTL3 представляет собой алирокумаб, эволокумаб или эвинакумаб или к OxPL представляет собой E06.

13. Фармацевтическая композиция для лечения остеопороза у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к RANKL или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

14. Фармацевтическая композиция по п. 13, в которой mAb к RANLK представляет собой денсомаб.

15. Фармацевтическая композиция для лечения метастатической меланомы, лимфомы или немелкоклеточной карциномы легкого у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb-блокатор PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более

регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

16. Фармацевтическая композиция по п. 15, в которой mAb-блокатор PD-1 представляет собой ниволумаб или пембролизумаб.

17. Фармацевтическая композиция для лечения системной красной волчанки (SLE) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к BLyS или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

18. Фармацевтическая композиция по п. 17, в которой mAb к BLyS представляет собой белимумаб.

19. Фармацевтическая композиция для лечения нарушений глаз, включая в себя возрастную макулярную дегенерацию, у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к VEGF, к MMP9 или к fD или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одним или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека;

причем указанный вектор AAV составлен для субретинального, интравитреального или супрахориоидального введения в глаз указанного субъекта.

20. Фармацевтическая композиция по п. 19, в которой mAb к MMP9 представляет собой андекаликсимаб, к VEGF представляет собой ранибизумаб, бевацизумаб, бролуцизумаб и к fD представляет собой лампализумаб.

21. Фармацевтическая композиция для лечения муковисцидоза (CF), ревматоидного артрита (RA), UC, CD, солидных опухолей, аденокарциномы поджелудочной железы, аденокарциномы легких, плоскоклеточной карциномы легких, пищеводно-желудочной аденокарциномы, рака желудка, колоректального рака или рака молочной железы, у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащий вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к MMP9 или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или в мышечных клетках человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

22. Фармацевтическая композиция по п. 21, в которой mAb к MMP9 представляет собой андекаликсимаб.

23. Фармацевтическая композиция для лечения наследственного ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к калликреину или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной

или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в мышечных клетках человека или клетках печени человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

24. Композиция по п. 23, в которой mAb к калликреину представляет собой ланаделумаб.

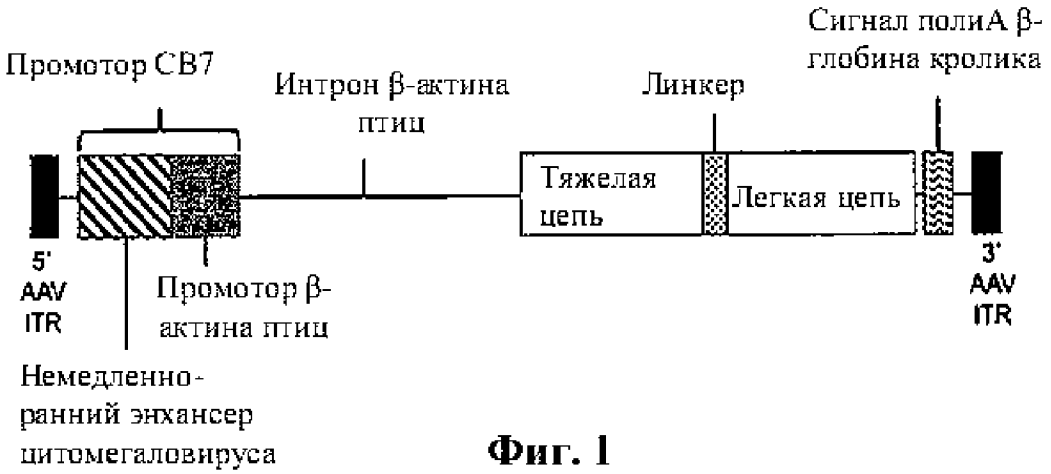
25. Фармацевтическая композиция для лечения ревматоидного артрита, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита, болезни Крона, бляшечного псориаза или язвенного колита у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор AAV, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 78) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 79); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к TNF-альфа или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в мышечных клетках или клетках печени человека;

причем указанный вектор AAV составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

26. Фармацевтическая композиция по п. 25, в которой mAb к TNF-альфа представляет собой адалимумаб или инфликсимаб.



Фиг. 1

Фиг. 2A Конструкция IgG1 Fab адуканумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь адуканумаба (SEQ ID NO: 1):

XVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFAFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAV IWFDGTKKYY 60
TDSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNTLRAED TAVYYCARDR GIGARRGPYY MDVWGKGTTV 120
TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV 180
LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCD *+/- KTHT* (или *KTHL*) *+/-*
CPPCPA +/-PELLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь адуканумаба (SEQ ID NO: 2)

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP *EDFATYYCQQ* SYSTPLTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для адуканумаба)

EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR не подчеркнуты (предсказаны для адуканумаба)

EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 2A-2F

Фиг. 2B Конструкция IgG1 Fab кренезумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь кренезумаба (SEQ ID NO: 3):

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMSWVRQA PGKGLELVAS INSNGGSTYY 60
PDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCASGD YWGQGTTVTV SSASTKGPSV 120
FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV 180
VTVPSSSLGT KTYTCNVDHK PSNTKVDKRV ESKY *+/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL*

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь кренезумаба (SEQ ID NO: 4):

DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV YSNGDTYLHW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNRF 60
SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQSTHVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV 120
FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSL 180
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC 219

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для кренезумаба)
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
GPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 231)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для кренезумаба)
EDVGVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 251)
QGT = Сайт гликозилирования глутамина (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования аспарагина (N)

Фиг. 2A-2F (продолжение)

Фиг. 2C Конструкция IgG1 Fab гантенерумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь гантенерумаба (SEQ ID NO: 5):

QVELVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA IMASGTRTYY 60
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARGK GNTHKPYGYV RYFDVWGQGT 120
LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP 180
AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD +/- *KTHT* (или *KTHL*) +/-
CPPCPA +/- *PELLGGPSVFL* 250

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь гантенерумаба (SEQ ID NO: 6):

DIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SSYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGVP 60
ARFSGSGSGT DFTLTISSLE PEDFATYYCL QIYNMPITFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP 120
PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL 180
TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC 215

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для гантенерумаба)
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)
NAS = Сайт гликозилирования по аспарагину (N)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для гантенерумаба)
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 2A-2F (продолжение)

Фиг. 2D Конструкция Fab aTAU:

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь aTAU (SEQ ID NO: 53):

EVKVVESGGG LVQPGGSMKL SCVVSGFTFS NYWVNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT
HYEESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNNLRA *EDSGIYYCTN WEDYWGQGTT* VTVSSASTKG
PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL
SSVVTVPSSS LGTKTYTCNV DHKPSNTKVD KRVESKY +/- *GPPCPPCPA* +/- *PEFLGGPSVFL*

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь aTAU (SEQ ID NO: 54):

DIVLTQSPDS LAVSLGERAT ISCRASQSVS TSRYSYIHWY QQKPGQPPKL LIKYASNLES
GVPSRFSGSG SGTDFTLNIH PLEP*EDFATY* YCHHSWEIPL TFGQGTKLEI KRTVAAPSVF
IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS
STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для TAU)

EDTAVYY и *NWEDYW* = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NOS 248 и 252)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

GPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 231)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для TAU)

EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 2A-2F (продолжение)

Фиг. 2E Конструкция Fab эренумаба:

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь эренумаба (SEQ ID NO: 55):
QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAV ISFDGSIKYS 60
VDSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCARDR LNYYDSSGYY HYKYYGMAVW 120
GQGTTVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV 180
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVER KCCVE +/-CPPCPA +/-
PPVAG 235
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь эренумаба (SEQ ID NO: 56):
QSVLTQPPSV SAAPGQKVTI SCSGSSSNIG NNYVSWYQQL PGTAPKLLIY DNNKRPSGIP 60
DRFSGSKSGT STTLGITGLQ TGDEADYYCG TWDSRLSAVV FGGGTKLTVL GQPKANPTVT 120
LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADGSPVK AGVETTKPSK QSNNKYAASS 180
YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS 216

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (описаны для эренумаба)
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
VECPPCPAPPVAG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 253)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (описаны для эренумаба)
GDEADYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 256)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 2A-2F (продолжение)

Фиг. 2F Конструкция IgG1 Fab BAN2401

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь BAN2401 (SEQ ID NO: 57):
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCSASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY ISSGSSTIYY 60
GDTVKGRFTI SRDNAKNSLF LQMSSLRAED TAVYYCAREG GYYYGRSYYT MDYWGQGTTV 120
TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV 180
LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGG

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь BAN2401 (SEQ ID NO: 58):
DVVMTQSPLS LPVTPGAPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF 60
SGVPDRFSGS GSGTDFTLRI SRVEAEDVGI YYCFQGSHVP PTFGPGTKLE IKRTVAAPSV 120
FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL 180
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC 219

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY - Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO; 248)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)
или
DKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 254)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDVGIY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 255)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 2A-2F (продолжение)

Фиг. 3A Конструкция IgG4 Fab дупилумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь дупилумаба (SEQ ID NO: 7):

EVQLVESGGG LEQPGGSLRL SCAGSGFTFR DYAMTWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGGNTYY 60
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDR LSITIRPRYY GLDVWGQGTT 120
VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA 180
VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTKTYTCNV DHKPSNTKVD KRVESKY +/- *GPPCPPCPA* +/-
PEFLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь дупилумаба (SEQ ID NO: 8):

DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLL YSIGYNYLDW YLQKSGQSPQ LLIYLGSNRA 60
SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEA*EDVGF* YYCMQALQTP YTFGQGTKLE IKRTVAAPSV 120
FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL 180
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC 219

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для дупилумаба)

EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

GPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 231)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для дупилумаба)

EDVGFYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 257)

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 3B Конструкция IgG4 Fab иксекизумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь иксекизумаба (SEQ ID NO: 9):

QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYSFT DYHIHWVRQA PGQGLEWMGV INPMYGTTDY 60
NQRFKGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARYD YFTGTGVYWG QGTLVTVSSA 120
STKGPSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG 180
LYSLSSVVTV PSSSLGTKTY TCNVDHKPSN TKVDKRVESK Y +/- *GPPCPPCPA* +/- *PEFLGGPSVFL*

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь иксекизумаба (SEQ ID NO: 10):

DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISCRSSRSLV HSRGNTYLHW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNRF 60
IGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEA*EDVGV* YYCSQSTHLP FTFGQGTKLE IKRTVAAPSV 120
FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL 180
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC 219

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для иксекизумаба)

EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

GPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 231)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для иксекизумаба)

EDVGVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 251)

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 3A-3E

Фиг. 3C Конструкция IgG1 секукинумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь секукинумаба (SEQ ID NO: 11):
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYWMNWVRQA PGKGLEWVAA INQDGSEKYY 60
VGSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRVED TAVYYCVRDY YDILTDYYIH YWYFDLWGRG 120
TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF 180
PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKRVEPKSC *D +/- KTHT* (или *KTHL)*
+/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь секукинумаба (SEQ ID NO: 12):
EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SSYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGIP 60
DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYYCQ QYGSSPCTFG QGTRLEIKRT VAAPSVFIFP 120
PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL 180
TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC 215

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для секукинумаба)
EDTAVYY и *DILTDYYIHY* = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NOS 248 и 258)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для секукинумаба)
EDFAVYY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 259)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 3A-3E (продолжение)

Фиг. 3D Конструкция IgG1 устекинумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь устекинумаба (SEQ ID NO: 13):
EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT TYWLGWVRQM PGKGLDWIGI MSPVDSDIRY 60
SPSFQGQVTM SVDKSITTAY LQWNSLKASD TAMYYCARRR PGQGYFDFWG QGTLVTVSSS 120
STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG 180
LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKRVEPK SCD *+/- KTHT* (или *KTHL*) *+/- CPPCPA*
+/-PELLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь устекинумаба (SEQ ID NO: 14):
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS SWLAWYQQKP EKAPKSLIYA ASSLQSGVPS 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP *EDFATYYCQQ YNIYPYTFGQ* GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (описаны для устекинумаба)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DKTBTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (описаны для устекинумаба)
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 3A-3E (продолжение)

Фиг. 3E Конструкция IgG1 Fab меполизумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь меполизумаба (SEQ ID NO: 15):
QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTVSGFSLT SYSVHWVRQP PGKGLEWLGV IWASGGTDYN 60
SALMSRLSIS KDTSRNQVVL TMTNMDPVDT ATYYCARDPP SSLLRLDYWG RGTPVTVSSA 120
STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG 180
LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKRVEPK SCD +/- KTHT (или KTHL) +/- CPPCPA
+/-PELLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь меполизумаба (SEQ ID NO: 16):
DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL NSGNQKNYLA WXQQKPGQPP KLLIYGASTR 60
ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNVHSF PFTFGGGTKL EIKRTVAAPS 120
VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS 180
LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC 220

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (описаны для меполизумаба)
DTATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 260)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (описаны для меполизумаба)
EDVAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 261)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 3A-3E (продолжение)

Фиг. 4A Конструкция IgG1 Fab ведолизумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь ведолизумаба (SEQ ID NO: 17)

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKGSGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE IDPSESNTNY 60
NQKFKGRVTL TVDISASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGG YDGWDYAIDY WGQGTLVTVS 120
SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS 180
SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCD +/- KTHT (или KTHL) +/-
CPPCPA +/- PELAGAPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь ведолизумаба (SEQ ID NO: 18)

DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLA KSYGNTYLSW YLQKPGQSPQ LLIYGISNRF 60
SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCLQGTHQP YTFGQGTKVE IKRTVAAPSV 120
FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL 180
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC 219

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для ведолизумаба)

EDTAVYY и *DGWDYAIDY* = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NOS 248 и 262)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

DKTHTCPPCPAPELAGA - Шарнирная область (SEQ ID NO: 263)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для ведолизумаба)

EDVGVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 251)

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 4B Конструкция IgG4 Fab натализумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь натализумаба (SEQ ID NO: 19):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGFNIK DTYIHWVRQA PGQRLEWMGR IDPANGYTKY 60
DPKFQGRVTI TADTSASTAY MELSSLRSED TAVYYCAREG YYGNYGVYAM DYWGQGTLVT 120
VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL 180
QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH KPSNTKVDKR VESKY +/- GPPCPPCPA +/-
PEFLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь натализумаба (SEQ ID NO: 20)

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKTSQDIN KYMAWYQQTP GKAPRLLIHY TSALQPGIPS 60
RFSGSGSGRD YTFTISSLQP EDIATYYCLQ YDNLWTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS 120
DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL 180
SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC 213

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты.

EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248).

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q).

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N).

GPPCPPCPA +/- PEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 231)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты.

EDIATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 264).

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N).

Фиг. 4A-4B

Фиг. 5A Конструкция IgG1 Fab алирокумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь алирокумаба (SEQ ID NO: 21)
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFN NYAMNWVRQA PGKGLDWVST ISGSGGTTNY 60
ADSVKGRFII SRDSSKHTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDS NWGNFDLWGR GTLVTVSSAS 120
TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL 180
YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CD +/- *KTHT* (или *KTHL*) +/- *CPPCPA* +/- *PELLGGPSVFL*

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь алирокумаба (SEQ ID NO: 22)
DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSVL YRSNNRNFLG WYQQKPGQPP NLLIYWASTR 60
ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQQYYTT PYTFGQGTKL EIKRTVAAPS 120
VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS 180
LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC 220

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для алирокумаба)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для алирокумаба)
EDVAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 261)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

Фиг. 5B Конструкция IgG2 Fab эволокумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь эволокумаба (SEQ ID NO: 23)
EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTLT SYGISWVRQA PGQGLEWMGW VSFYNGNTNY 60
AQKLQGRGTM TTDPSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARGY GMDVWGQGTT VTVSSASTKG 120
PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL 180
SSVVTVPSSN FGTQTYTCNV DHKPSNTKVD KTVERKCCVE +/- *CPPCPA* +/- *PPVAG* 231

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь эволокумаба (SEQ ID NO: 24)
ESALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSSDVG GYNSVSWYQQ HPGKAPKLMI YEVSNRPSGV 60
SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDEADYYC NSYTSTSMVF GGGTKLTVLG QPKAAPSVTL 120
FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTTPSKQ SNNKYAASSY 180
LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH EGSTVEKTVA PTECS 215

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для эволокумаба)
DDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 265)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
VECPPCPAPPVAG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 253)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для эволокумаба)
EDEADYY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 266)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 5A-5C

Фиг. 5C Конструкция IgG4 Fab эвинакумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь эвинакумаба (SEQ ID NO: 25)
EVQLVESGGG VIQPGGSLRL SCAASGFTFD DYAMNWVRQG PGKGLEWVSA ISGDGGSTYY 60
ADSVKGRFTI SRDNSKNSLY LQMNSLRAED TAFFYCAKDL RNTIFGVVIP DAFDIWGQGT 120
MVTVSSASTK GPSVFPLAPC SRSTSESTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP 180
AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTKTYTCN VDHKPSNTKV DKRVESKYGP P +/- CPPCPA +/-
PEFLGGPSVFL
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь эвинакумаба (SEQ ID NO: 26)
DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSIR SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASSLESGVPS 60
RFSGSGSGTE FTLTISSLQP *DDFATYYCQQ* YNSYSYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для эвинакумаба)
EDTAFFY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 267)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
CPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 268)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для эвинакумаба)
DDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 269)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

Фиг. 5D Конструкция единственной цепи E06

Лидер (SEQ ID NO: 244):
MYRMQLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь E06 (SEQ ID NO: 60)
DIVMTQSP*SS* *LSVSAGKKVT* ISCTASESLY SSKHKVHYLA *WYQKKPEQSP* KLLIYGASNR 60
YIGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQVEDLT HYYCAQFYSY PLTFGAGTKL EIK 113
Линкер (SEQ ID NO: 245)
GGGGSGGGGSGGGGS
Тяжелая цепь E06 (SEQ ID NO: 59)
EVKLVESGGG LVQPGGSLRL SCATSGFTFS DFYMEWVRQA PGKRLEWIAA SRNKANDYTT 60
EYADSVKGRF IVSRDTSQSI LYLQMNALRA *EDTAIYYCAR* DYYGSSYWYF DVWGAGTTVT 120
VSS

Перечень условных обозначений легкой цепи:
YQKKPE = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 270)

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
SRN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DYTTEY, EDTAIYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NOS 271 и 272)

Фиг. 5A-5C (продолжение)

Фиг. 6 Конструкция IgG1 Fab деносумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь деносумаба (SEQ ID NO: 27)
EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSG ITGSGGSTYY 60
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDP GTTVIMSWFD PWGQGTLVTV 120
SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ 180
SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKKV EPKSCD +/- *KTHT* (или *KTHL*) +/-
CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь деносумаба (SEQ ID NO: 28)
EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVR GRYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGIP 60
DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVFYCQ QYGSSPRTFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP 120
PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL 180
TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC 215

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для деносумаба)
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для деносумаба)
EDFAVFY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 273)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 6

Фиг. 7A Конструкция IgG4 Fab ниволумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161) :MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь ниволумаба (SEQ ID NO: 29)
QVQLVESGGG VVQPGRSLRL DCKASGITFS NSGMHWVRQA PGKGLEWVAV IWYDGSKRYY 60
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCATND DYWGQGTLVT VSSASTKGPS 120
VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS 180
VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH KPSNTKVDKR VE SKY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь ниволумаба (SEQ ID NO: 30)
EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASNRATGIPA 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для ниволумаба)
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
GPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 231)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для ниволумаба)
EDFAVYY = *C*сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 259)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN - Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 7B Конструкция IgG4 Fab пембролизумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь пембролизумаба (SEQ ID NO: 31)
QVQLVQSGVE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYYMYWVRQA PGQGLEWMGG INPSNGGTNF 60
NEKFKNRVTL TTDSSTTTAY MELKSLQFDD TAVYYCARRD YRFDMGFDYW GQGTTVTVSS 120
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS 180
GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь пембролизумаба (SEQ ID NO: 32)
EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASKGVS TSGYSYLHWY QQKPGQAPRL LIYLASYLES 60
GVPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQHSRDLPL TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF 120
IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS 180
STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC 218

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для пембролизумаба)
DDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 265)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования аоаспарагина (N)
GPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 231)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для пембролизумаба)
EDFAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 259)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 7A-7B

Фиг. 8A Конструкция IgG1 ранибизумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь ранибизумаба (SEQ ID NO: 33):

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYDFT HYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY 60
AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED *TAVYYCAKYP YYYGTSHWYF DVWGQGTLVT* 120
VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL 180
QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSC*D +/- KTHT* (или *KTHL) +/-*
CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь ранибизумаба (SEQ ID NO: 34):

DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP *EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ* GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты

EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты

EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 8B Конструкция IgG1 Fab бевацизумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь бевацизумаба (SEQ ID NO: 35):

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY 60
AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED *TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT* 120
VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL 180
QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSC*D +/- KTHT (KTHL) +/-*
CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь бевацизумаба (SEQ ID NO: 36):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP *EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ* GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGMSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты

EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты

EDVATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 274)

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q) (SEQ ID NO: 275)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 8A-8H

Фиг. 8C Конструкция IgG1 Fab лампализумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь лампализумаба (SEQ ID NO: 37):
EVQLVQSGPE LKKPGASVKV SCKASGYTFT NYGMNWVRQA PGQGLEWMGW INTYTGETTY 60
ADDFKGRFVF SLDTSVSTAY LQISSLKAED TAVYYCEREG GVNNWGQGTL VTVSSASTKG 120
PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL 180
SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь лампализумаба (SEQ ID NO: 38):
DIQVTQSPSS LSASVGDRVT ITCITSTDID DDMNWYQQKP GKVPKLLISG GNTLRPGVPS 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ SDSLPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для лампализумаба)
ETTYADDF и *EDTAVYY* = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NOS 276 и 248)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для лампализумаба)
EDVATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 274)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 8D Конструкция единственной цепи бролуцизумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь бролуцизумаба (SEQ ID NO: 40):
EIVMTQSPST LSASVGDRVI ITCQASETIH SWLAWYQQKP GKAPKLLIYL ASTLASGVPS 60
RFSGSGSGAE FTLTISSLQP DDFATYYCQN VYLASTNGAN FGQGTKLTVL G 111

Линкер (SEQ ID NO: 246):
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

Тяжелая цепь бролуцизумаба (SEQ ID NO: 39):
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCTASGFSLT DYYYMTWVRQ APGKGLEWVG FIDPDDDPYY 60
ATWAKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGGD HNSGWGLDIW GQGTLVTVSS 120

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для бролуцизумаба)
DDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 269)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для бролуцизумаба)
EDVATYY и *SKTDYYY* и *DDDPYY*= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NOS 274, 277 и 278)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 8A-8H (продолжение)

Фиг. 8E Конструкция IgG1 Fab белимумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь белимумаба (SEQ ID NO: 41):
QVQLQQSGAE VKKPGSSVRV SCKASGGTFN NNAINWVRQA PGQGLEWMGG IIPMFGTAKY 60
SQNFQGRVAI TADESTGTAS MELSSLRSED TAVYYCARSR DLLLFPHHAL SPWGRGTMVT 120
VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL 180
QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCD +/- KTHT(или KTHL) +/-
CPPCPA +/-PELLGGPSVFL
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь белимумаба (SEQ ID NO: 42):
SSELTQDPAV SVALGQTVRV TCQGDSLRSY YASWYQQKPG QAPVLVIYGK NNRPSGIPDR 60
FSGSSSGNTA SLTITGAQAE DEADYYCSSR DSSGMHWVFG GGTELTVLGQ PKAAPSVTLF 120
PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL 180
SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для белимумаба)
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для белимумаба)
EDEADYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 266)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 8A-8H (продолжение)

Фиг. 8F Конструкция FAB экулизумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь экулизумаба (SEQ ID NO: 43):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFS NYWIQWVRQA PGQGLEWMGE ILPGSGSTEY 60
TENFKDRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARYF FGSSPNWYFD VWGQGTLVTV 120
SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ 180
SSGLYSLSSV VTVPSSNFGT QTYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCCVE +/- CPPCPA +/- PPVAG 238

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161):MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь экулизумаба (SEQ ID NO: 44):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCGASENIY GALNWYQQKP GKAPKLLIYG ATNLADGVPS 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQN VLNTPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для экулизумаба)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

VECPPCPAPPVAG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 253)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для экулизумаба)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 8G Конструкция IgG4 Fab андекаликсимаба

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь андекаликсимаба (SEQ ID NO: 45):

QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGFSLL SYGVHWVRQP PGKGLEWLGV IWTGGTTNYN 60
SALMSRFTIS KDDSKNTVYL KMNSLKTEDT AIYYCARYYY GMDYWGQGTL VTVSSASTKG 120
PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL 180
SSVVTVPSSS LGTKTYTCNV DHKPSNTKVD KRVESKY +/- GPPCPPCPA +/- PEFLGGPSVFL

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь андекаликсимаба (SEQ ID NO: 46):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVR NTVAWYQQKP GKAPKLLIYS SSYRNTGVPD 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQA EDVAVYYCQQ HYITPYTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты.

DDTAIYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 279).

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

GPPCPPCPA +/- PEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 231)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты.

EDVAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 261).

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 8A-8H (продолжение)

Фиг. 8H Конструкция ланаделумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь ланаделумаба (SEQ ID NO: 47):
EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS HYIMMWVRQA PGKGLEWVSG IYSSGGITVY 60
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAYRR IGVPRRDEFD IWGQGTMVTV 120
SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ 180
SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKRV EPKSCD +/- KTHT (или KTHL) +/-
CPPCPA
+/- PELLGGPSVFL 242
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь ланаделумаба (SEQ ID NO: 48):
DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSIS SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASTLESGVPS 60
RFSGSGSGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNTYWTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS 120
DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL 180
SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC 213

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты.
EDTAVYY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 248).
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q).
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N).
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249).

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты.
DDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 269)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q).
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N).

Фиг. 8A-8H (продолжение)

Фиг. 9A Конструкция Fab адалимумаба

Лидер (SEQ ID NO: 161): MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь адалимумаба (SEQ ID NO: 49):

EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASGFTFD DYAMHWVRQA PGKGLEWVSA ITWNSGHIDY 60
ADSVEGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAKVS YLSTASSLDY WGQGTLVTVS 120
SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS 180
SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCD =/- KTHT (KTHL) +/- CPPCPA
+/-PELLGGPSVF L

Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)

RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

Лидер (SEQ ID NO: 161):

MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь адалимумаба (SEQ ID NO: 247):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NYLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS 60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCQR YNRAPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для адалимумаба)

FTFDDYA и *EDTAVYY* = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NOS 280 и 248)

QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:

CDR подчеркнуты (предсказаны для адалимумаба)

EDVATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 274)

QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 9A-9B

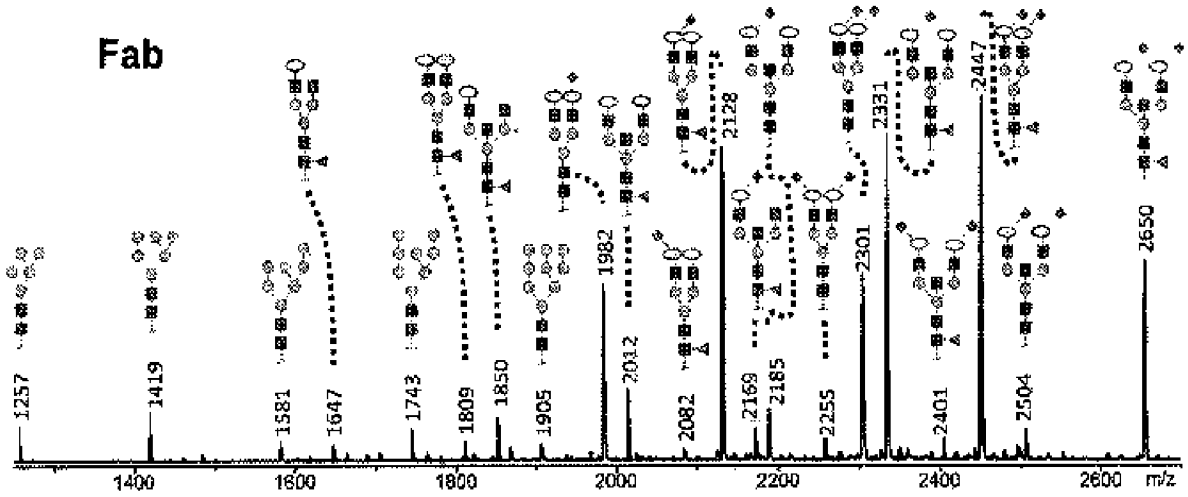
Фиг. 9B Конструкция Fab инфликсимаба

Лидер (SEQ ID NO: 161):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь инфликсимаба (SEQ ID NO: 51):
EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASGFIFS NHWMNWVRQS PEKGLEWVAE IRSKSINSAT 60
HYAESVKGRF TISRDDSKSA VYLQMTDLRT *EDTGVYYC*SR NYYGSTYDYW GQGTTLTVSS 120
ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS 180
GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCD *+/- KTHT (KTHL) +/- CPPCPA +/-PELLGGPSVF L*
Линкер фурин-F2A (SEQ ID NO: 242)
RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Лидер (SEQ ID NO: 161):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь инфликсимаба (SEQ ID NO: 52):
DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSCRASQFVG SSIHWYQQRT NGSPRLLIKY ASESMSGIPS 60
RFSGSGSGTD FTLSINTVES *EDIADYYC*QQ SHSWPFTFGS GTNLEVKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC 214

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для инфликсимаба)
EDTGVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 281)
QGT= Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
DKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказаны для инфликсимаба)
EDIADYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 282)
QGT = Сайт гликозилирования по глутамину (Q)
NX(S/T) = Консенсусный сайт гликозилирования
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

Фиг. 9A-9B (продолжение)



галактоза
маннноза
фукоза
N-ацетилглюкозамин
α(2,3)-связанная N-ацетилнейраминовая кислота
α(2,6)-связанная N-ацетилнейраминовая кислота

Фиг. 10

Фиг. 11A **Выравнивание Clustal O(1.2.4) тяжелой цепи терапевтического Fab**

```
Адукапумаб      XVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSY-GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWFDG--TEK-YY 60
Кренезумаб      EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY-GMSWVRQAPGKGLELVASINSNG--GST-YY 60
Гантенерумаб    QVELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY-AMSWVRQAPGKGLEWVSAINASG--TRT-YY 60
Дупилумаб       EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDY-AMTWVRQAPGKGLEWVSSISGSG--GNT-YY 60
Иксекизумаб     QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFTDY-HIHWVRQAPGQGLEWMGVINPMY--GTT-DY 60
Секукинумаб     EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNY-WMNWVRQAPGKGLEWVAAINQDG--SEK-YY 60
Устекинумаб     EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTTY-WLGWVRQMPGKGLDWIGIMSPVD--SDI-RY 60
Меполизумаб     QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLTSY-SVHWVRQPPGKGLEWLGVIWASG--G-T-DY 59
Ведолизумаб     QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKGSGYTFTSY-WMHWVRQAPGQRLEWIGEIDPSE--SNTNY- 60
Натализумаб     QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDT-YIHWVRQAPGQRLEWMGRIDPAN--GYTKYD 61
Алирокумаб      EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNNY-AMNWVRQAPGKGLDWVSTISGSG--GTTNY- 60
Эволокумаб      EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSY-GISWVRQAPGQGLEWMGWVSFYN--GNTNY- 60
Эвинакумаб      EVQLVESGGGVIQPGGSLRLSCAASGFTFDDY-AMNWVRQGPGKGLEWVSAISGDG--GST-YY 60
Деносумаб       EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA-MSWVRQAPGKGLEWVSGITGSG--GST-YY 60
Ниволумаб       QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNS-GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDG--SKRYY- 60
Пембролизумаб   QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNY-YMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSN--GGTNF- 60
Рапибизумаб     EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYDFTHY-GMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYT--GEP-TY 60
E06. scFv       EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFSDF-YMEWVRQAPGKRLEWIAASRNKANDYTT-EY 62
BAN2401         EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFSSF-GMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGS--STI-YY 60
Бевацизумаб     EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNY-GMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYT--GEP-TY 60
Эренумаб        QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSF-GMHWVRQAPGKGLEWVAVISF-D--GSIKYS 60
aTAU            EVKVVESGGGLVQPGGSMKLSCVVSGFTFSNY-WVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYATHYE 63
Бролуцизумаб    EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTDYYYMTWVRQAPGKGLEWVGFID---PDDD-PYY 60
Лампализумаб    EVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNY-GMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYT--GETTY- 60
Апдекаликсимаб  QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLLSY-GVHWVRQPPGKGLEWLGVIWTGG--TT-NYN 60
Белимумаб       QVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNN-AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMF--GTAKYS 61
Экулизумаб      QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNY-WIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGS--GSTEYT 61
Ланаделумаб     EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHY-IMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSG--GIT-VY 60
Адалимумаб      EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDY-AMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNS--GHIDY- 60
Инфликсимаб     EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNH-WMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHY- 62
                   * * :**  : :*  :: : *  **  :    : **** **: *: :. :        :

"Адукапумаб     TDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNTLRAEDTAVYYCARDR-GIGARRGPY--YMDVWGKG 117
"Кренезумаб     PDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASG----------------DYWGQG 105
"Гантенерумаб   ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPY-GYVRYFDVWGQG 119
"Дупилумаб      ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRLSITIR--PRYYGLDVWGQG 118
"Иксекизумаб    NQRFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYDYFT----GTGV----YWGQG 112
"Секукинумаб    VGSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYYDILTDYYIHYWYFDLWGRG 120
"Устекинумаб    SPSFQGQVTMSVDKSITTAYLQWNSLKASDTAMYYCARRRPG--------QGYFDFWGQG 112
"Меполизумаб    NSALMSRLSISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARDPPSSLL-------RLDYWGRG 112
"Ведолизумаб    NQKFKGRVTLTVDISASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDG----W--DYAIDYWGQG 114
"Натализумаб    -PKFQGRVTITADTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGYYG----NYGVYAMDYWGQG 116
"Алирокумаб     ADSVKGRFTISRDSSKETLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSN---------WGNFDLWGRG 111
"Эволокумаб     AQKLQGRGTMTTDPSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARG------------YGMDVWGQG 108
"Эвинакумаб     ADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLRAEDTAFFYCAKDLRNTIFGV-VIPDAFDIWGQG 119
"Деносумаб      ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGTTV-----IMSWFDPWGQG 115
"Ниволумаб      ADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATND--------------DYWGQG 106
"Пембролизумаб  NEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRF----DMG---FDYWGQG 113
"Рапибизумаб    AADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYP-YY---YGTSHWYFDVWGQG 116
```

Фиг. 11A-11B

```
"E06. scFv        ADSVKGRFIVSRDTSQSILYLQMNALRAEDTAIYYCARD------YYGSSYWYFDVWGAG 116
"BAN2401          GDTVKGRFTISRDNAKNSLFLQMSSLRAEDTAVYYCAREGGYY---YGRSYYTMDYWGQG 117
"Бевацизумаб      AADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPH-Y---YGSSHWYFDVWGQG 116
"Эренумаб         VDSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDRLNYYDS[6]KYYGMAVWGQG 123
"aTAU             -ESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDSGIYYCT---NWE-----------DYWGQG 108
"Бролуцизумаб     ATWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGD-------HNSGWGLDIWGQG 113
"Лампализумаб     ADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCEREG------------GVNNWGQG 108
"Андекаликсимаб   S-ALMSRFTISKDDSKNTVYLKMNSLKTEDTAIYYCAR-----------YYYGMDYWGQG 108
"Белимумаб        -QNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYYCARSRDLL----LFPHHALSPWGRG 116
"Экулизумаб       -ENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARY-FFG----SSPNWYFDVWGQG 115
"Ланаделумаб      ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPR------RDEFDIWGQG 115
"Адалимумаб       ADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLS------TASSLDYWGQG 114
"Инфликсимаб      AESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSR----NYY--GSTY---DYWGQG 113
                     .  :  :: * :     :   .:   *** ;**                    **:*

                   N
"Адуканумаб       TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 177
"Кренезумаб       TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 165
"Гантенерумаб     TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 179
"Дупилумаб        TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 178
"Иксекизумаб      TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 172
"Секукинумаб      TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 180
"Устекинумаб      TLVTVSSSSTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 172
"Меполизумаб      TFVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 172
"Ведолизумаб      TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 174
"Натализумаб      TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 176
"Алирокумаб       TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 171
"Эволокумаб       TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 168
"Эвинакумаб       TMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 179
"Деносумаб        TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 175
"Ниволумаб        TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 166
"Пембролизумаб    TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 173
"Ранибизумаб      TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 176
"E06. scFv        TTVTVSS 123
"BAN2401          TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 177
"Бевацизумаб      TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 176
"Эренумаб         TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 183
"aTAU             TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 168
"Бролуцизумаб     TLVTVSS  120
"Лампализумаб     TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 168
"Андекаликсимаб   TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 168
"Белимумаб        TMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 176
"Экулизумаб       TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 175
"Ланаделумаб      TMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 175
"Адалимумаб       TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 174
"Инфликсимаб      TTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF 173
                  * *****:************.*:***  ********************************
```

Фиг. 11A-11B (продолжение)

```
"Адуканумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT 232
"Кренезумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY---GPP 217
"Гантенерумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 234
"Дупилумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY---GPP 230
"Иксекизумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG---PP 224
"Секукинумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT 235
"Устекинумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT 227
"Меполизумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT 227
"Ведолизумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 229
"Натализумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG---PP 228
"Алирокумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 226
"Эволокумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCC---VE 220
"Эвинакумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY---GPP 231
"Деносумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 230
"Ниволумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY---GPP 218
"Пембролизумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG---PP 225
"Ранибизумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHL 226
"BAN2401 PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD 228
"Бевацизумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 231
"Эренумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVE 235
"aTAU PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY---GPP 220
"Лампализумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 218
"Андекаликсимаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY---GPP 220
"Белимумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 231
"Экулизумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCC---VE 227
"Ланаделумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT 230
"Адалимумаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 229
"Инфликсимаб PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT 228
                ********************.:**:** ***:********** ** *
```

Фиг. 11B **Выравнивание Clustal O(1.2.4) легкой цепи терапевтического Fab**

```
"Адуканумаб DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI------SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL 54
"Кренезумаб DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVYSN-GDTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR 59
"Гантенерумаб DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVS-----SSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR 55
"Дупилумаб DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSI-GYNYLDWYLQKSGQSPQLLIYLGSNR 59
"Иксекизумаб DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSRSLVHSR-GNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR 59
"Секукинумаб EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVS-----SSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR 55
"Устекинумаб DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGI------SSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSL 54
"Меполизумаб DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWXQQKPGQPPKLLIYGASTR 60
"Ведолизумаб DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLAKSY-GNTYLSWYLQKPGQSPQLLIYGISNR 59
"Натализумаб DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKTSQDI------NKYMAWYQQTPGKAPRLLIHYTSAL 54
"Алирокумаб DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYRSNNRNFLGWYQQKPGQPPNLLIYWASTR 60
"Эволокумаб ESALT-QPASVSGSPGQSITISCTGTSS---DVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNR 56
"Эвинакумаб DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSI------RSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSL 54
"Деносумаб EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVR-----GRYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR 55
"Ниволумаб EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVS------SYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR 54
"Пембролизумаб EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSG--YSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYL 58
"Ранибизумаб DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDI---SN---YLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSL 54
"E06. scFv DIVMTQSPSSLSVSAGKKVTISCTASESLYSSKHKVHYLAWYQKKPEQSPKLLIYGASNR 60
"BAN2401 DVVMTQSPLSLPVTPGAPASISCRSSQSIVH-SNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR 59
```

Фиг. 11A-11B (продолжение)

```
"Бевацизумаб      DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDI------SNYLNWYQQKPGKAPKVLIYFTSSL 54
"aTAU             DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTS--RYSYIHWYQQKPGQPPKLLIKYASNL 58
"Эренумаб         QSVLTQ-PPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIG----NNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKR 55
"Бролуцизумаб     EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASEI-I-------SWLAWYQQKPGKAPKLLIYLASTL 54
"Лампализумаб     DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDI-------DDDMNWYQQKPGKVPKLLISGGNTL 54
"Андекаликсимаб   -IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDV-------RNTVAWYQQKPGKAPKLLIYSSSYR 53
"Белимумаб        SSELT-QDPAVSVALGQTVRVTCQGDSL---R---SYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNR 53
"Экулизумаб       DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENI-------YGALNWYQQKPGKAPKLLIYGATNL 54
"Ланаделумаб      DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSI------SSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTL 54
"Адалимумаб       DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGI-------RNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTL 54
"Инфликсимаб      DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFV-------SSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASES 54
                     :*    ::  : *:   :.*                 *  *   : *  :*   .

"Адуканумаб QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYS---TPLTFGGGTKVEIK-RTVA 111
"Кренезумаб FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTH---VPWTFGQGTKVEIK-RTVA 116
"Гантенерумаб ATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCLQIYN---MPITFGQGTKVEIK-RTVA 112
"Дупилумаб ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGFYYCMQALQ---TPYTFGQGTKLEIK-RTVA 116
"Иксекизумаб FIGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTH---LPFTFGQGTKLEIK-RTVA 116
"Секукинумаб ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS---SPCTFGQGTRLEIK-RTVA 112
"Устекинумаб QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNI---YPYTFGQGTKLEIK-RTVA 111
"Меполизумаб ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVHS---FPFTFGGGTKLEIK-RTVA 117
"Ведолизумаб FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGTH---QPYTFGQGTKVEIK-RTVA 116
"Натализумаб QPGIPSRFSGSGSGRDYTFTISSLQPEDIATYYCLQYD----NLWTFGQGTKVEIK-RTVA 110
"Алирокумаб ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYT---TPYTFGQGTKLEIK-RTVA 117
"Эволокумаб PSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCNSYTS---TSMVFGGGTKLTVLGQPKA 114
"Эвинакумаб ESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNS---YSYTFGQGTKLEIK-RTVA 111
"Деносумаб ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYCQQYGS---SPRTFGQGTKVEIK-RTVA 112
"Пиволумаб ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSN---WPRTFGQGTKVEIK-RTVA 111
"Пембролизумаб ESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRD---LPLTFGGGTKVEIK-RTVA 115
"Рапибизумаб HSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYST---VPWTFGQGTKVEIK-RTVA 111
"E06. scFv YIGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQVEDLTHYYCAQFYS---YPLTFGAGTKLEIK      113
"BAN2401 FSGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGIYYCFQGSH---VPPTFGPGTKLEIK-RTVA 116
"Бевацизумаб HSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYST---VPWTFGQGTKVEIK-RTVA 111
"aTAU ESGVPSRFSGSGSGTDFTLNIHPLEPEDFATYYCHHSWEI---PLTFGQGTKLEIK-RTVA 115
"Эренумаб [4]PPDRFSGSKSGTSTTLGITGLQTGDEADYYCG-TWDSRLSAVVFGGGTKLTVLGQPKA 115
"Бролуцизумаб ASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLG     111
"Лампализумаб RPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQSDS---LPYTFGQGTKVEIK-RTVA 111
"Андекаликсимаб NTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHYI----TPYTFGGGTKVEIK-RTVA 110
"Белимумаб PSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDS-SGNHWVFGGGTELTVLGQPKA 113
"Экулизумаб ADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNVLN---TPLTFGQGTKVEIK-RTVA 111
"Ланаделумаб ESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNT---Y-WTFGQGTKVEIK-RTVA 110
"Адалимумаб QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNR---APYTFGQGTKVEIK-RTVA 111
"Инфликсимаб MSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQQSHSWP---FTFGSGTNLEVK-RTVA 111
                *:  ***** **   ::.*:  : :* . :**          .** **.: :  :  *
```

Фиг. 11A-11B (продолжение)

```
                                                                S/N
"Адукапумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"Крепезумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 176
"Гантенерумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 172
"Дупилумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 176
"Иксекизумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 176
"Секукинумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 172
"Устекинумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"Меполизумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 177
"Ведолизумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 176
"Натализумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 170
"Алирокумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 177
"Эволокумаб APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-E--TTTPSKQS 171
"Эвинакумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"Деносумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 172
"Пиволумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"Пембролизумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 175
"Рашбизумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"BAN2401 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 176
"Бевацизумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"aTAU APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 175
"Эренумаб NPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGV-E--TTKPSKQS 172
"Лампализумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"Андекаликсимаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"Белимумаб APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-ETTTPSKQSNN 172
"Экулизумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"Ланаделумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 170
"Адалимумаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
"Инфликсимаб APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS 171
             **** :****.*:*::..*::***:.:***  ..* **.*.:  ...  *:.* ....:.
```

Фиг. 11A-11B (продолжение)

```
                                                N
"Адуканумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"Крепезумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 219
"Гантенерумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 215
"Дупилумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 219
"Иксекизумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 219
"Секукинумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 215
"Устекинумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"Меполизумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 220
"Ведолизумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 219
"Натализумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 213
"Алирокумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 220
"Эволокумаб NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST--VEKTVAPTECS 215
"Эвинакумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"Деносумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 215
"Ниволумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"Пембролизумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 218
"Рапибизумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"BAN2401 --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 219
"Бевацизумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"aTAU --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 218
"Эренумаб NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST--VEKTVAPTECS 216
"Лампализумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"Ацдекаликсимаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"Белимумаб --KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST--VEKTVAPTECS 214
"Экулизумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"Ланаделумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 213
"Адалимумаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
"Нифликсимаб --TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- 214
            .*: ** *:*:  :::.*; *:*:***:* :  * *:.   **
```

Фиг. 11A-11B (продолжение)

```
        VP1 1-736 →
AAV1    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
AAV2    MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
AAV3-3  MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGVPQPKANQQHQDNRRGLVLPGYKYLGPGNGLD 60
AAV4-4  -MTDGYLPDWLEDNLSEGVREWWALQPGAPKPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPGNGLD 59
AV5     MSFVDHPPDWLEE-VGEGLREFLGLEAGPPKPKPNQQHQDQARGLVLPGYNYLGPGNGLD 59
AAV6    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
AAV7    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDNGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
AAV8    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
hu31    MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPGNGLD 60
hu32    MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPGNGLD 60
AAV9    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPGNGLD 60
SUBS    -STVDHP-----ETVG--V-QFLK-QA-P-K--PAERKK-DG---------N----F----
         MF                L    D E  V P          QS
                                G      Q           R

AAV1    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV2    KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV3-3  KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV4-4  KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQQRLQGDTSFGGNLGRAVFQ 119
AV5     RGEPVNRADEVAREHDISYNEQLEAGDNPYLKYNHADAEFQEKLADDTSFGGNLGKAVFQ 119
AAV6    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV7    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV8    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
hu31    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ 120
hu32    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV9    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ 120
SUBS    R-----E--EV-R---IS-NE--DS------R----------QK-QD---------K----
              R             R  E                     AG
                                Q

                          VP2 138 → --HVR1--
AAV1    AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS 179
AAV2    AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEKSPV-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA 179
AAV3-3  AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKGAVDQSPQ-EPDSSSGVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS 179
AAV4-4  AKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKRPLIESPQ-QPDSSTGIGKKGKQPAKKKLVFEDETGA 178
AV5     AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPTGKRIDDHFP----------KRKKARTEEDSKPSTSSDA 168
AAV6    AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS 179
AAV7    AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPAKKRPVEPSPQRSPDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS 180
AAV8    AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRSPDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS 180
hu31    AKKRLLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSAGIGKSGSQPAKKKLNFGQTGDT 179
hu32    AKKRLLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSAGIGKSGSQPAKKKLNFGQTGDT 179
AAV9    AKKRLLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDT 179
SUBS    ----V---F----QGGE---TG-GIDDHF-V-S----S-T--KKQARTREKSVPEDETGA
            I         PV    A   ALIP    Q    T V  T K   E D K STSS S
                                 E             A S
                                               R A
```

Фиг. 12

```
          -HVR2-                    VP3203→
AAV1      ESVPD-PQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR 238
AAV2      DSVPD-PQPLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDR 238
AAV3-3    ESVPD-PQPLGEPPAAPTSLGSNTMASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSQWLGDR 238
AAV4-4    GDGP----PEGSTSGAMS--DDSEMRAAAGGAAVEGGQGADGVGNASGDWHCDSTWSEGH 232
AV5       EAGPSGSQQLQIPAQPASSLGADTMSAGGGGPLGDNNQGADGVGNASGDWHCDSTWMGDR 228
AAV6      ESVPD-PQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR 238
AAV7      ESVPD-PQPLGEPPAAPSSVGSGTVAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR 239
AAV8      ESVPD-PQPLGEPPAAPSGVGPNTMAAGGGAPMADNNEGADGVGSSSGNWHCDSTWLGDR 239
hu31      ESVPD-PQPIGEPPAAPSGVGSLTMASGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDR 238
hu32      ESVPD-PQPIGEPPAAPSGVGSLTMASGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDR 238
AAV9      ESVPD-PQPIGEPPAAPSGVGSLTMASGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDR 238
SUBS      GDG-S-S-QLQQTSGTMASLDPNEVRAAA-GAMGEGGQ------NA--D-----T-MEGH
          DA        E S AQPATA  AG  ST S   LV                      S
                      I       -- DT         A
                                 TD
                                  S

                                  HVR3
AAV1      VITTSTRTWALPTYNNHLYKQIS-SASTGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 297
AAV2      VITTSTRTWALPTYNNHLYKQIS--SQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 296
AAV3-3    VITTSTRTWALPTYNNHLYKQIS--SQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 296
AAV4-4    VTTTSTRTWVLPTYNNHLYKRLG-----ESLQSNTYNGFSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 287
AV5       VVTKSTRTWVLPSYNNHQYREIKS-GSVDGSNANAYFGYSTPWGYFDFNRFHSHWSPRDW 287
AAV6      VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSASST-GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 297
AAV7      VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISS-ETAGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 298
AAV8      VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGATNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 299
hu31      VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 298
hu32      VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 298
AAV9      VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 298
SUBS      -T-K-----V--S----Q-RRLGSGSQSDATQA-T-----------------S-W-----
           V                    E K AATTEGL S H
                                  G V
                                  E A

AAV1      QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDSEYQLPYVLGS 357
AAV2      QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS 356
AAV3-3    QRLINNNWGFRPKKLSFKLFNIQVRGVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS 356
AAV4-4    QRLINNNWGMRPKAMRVKIFNIQVKEVTTSNGETTVANNLTSTVQIFADSSYELPYVMDA 347
AV5       QRLINNYWGFRPRSLRVKIFNIQVKEVTVQDSTTTIANNLTSTVQVFTDDDYQLPYVVGN 347
AAV6      QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDSEYQLPYVLGS 357
AAV7      QRLINNNWGFRPKKLRFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTIQVFSDSEYQLPYVLGS 358
AAV8      QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNEGTKTIANNLTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS 359
hu31      QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQVFTDSDYQLPYVLGS 358
hu32      QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQVFTDSDYQLPYVLGS 358
AAV9      QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQVFTDSDYQLPYVLGS 358
SUBS      ----------M--RAMRV-I----------VQDSTT----------I-I-S-DE-E----MDA
                        K S             QSE E               A  S
                        S
```

Фиг. 12 (продолжение)

```
                                   HVR4
AAV1    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY 414
AAV2    AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY 413
AAV3-3  AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY 413
AAV4-4  GQEGSLPPFPNDVFMVPQYGYCGLVTGNTSQQQTDRNAFYCLEYFPSQMLRTGNNFEITY 407
AV5     GTEGCLPAFPPQVFTLPQYGYATLNRD-NTENPTERSSFFCLEYFPSKMLRTGNNFEFTY 406
AAV6    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY 414
AAV7    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQSVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY 415
AAV8    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFTY 416
hu31    AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDG---GQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY 415
hu32    AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY 415
AAV9    AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY 415
SUBS    GQQ-S--A--PQ--TL-----CG-VND---GNPTD-NA-F----------------EIT-
         T        N    V     A   T    Q Q E                     T
                                  R    E S

                                                  ---------HVR5----------
AAV1    TFEEVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-NQSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV 473
AAV2    TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTN-TPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRD 472
AAV3-3  TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQGTTSGTTNQSRLLFSQAGPQSMSL 473
AAV4-4  SFEKVPFHSMYAHSQSLDRLMNPLIDQYLNGLQSTTTGTTLNAGTATTNFTKLRPTNFSN 467
AV5     NFEEVPFHSSFAPSQNLFKLANPLVDQYLYRFVSTN-------NTGGVQFNKNLAGRYAN 459
AAV6    TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-NQSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV 473
AAV7    SFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLARTQSNPGGTAGNRELQFYQGGPSTMAE 475
AAV8    TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQT-TGGTANTQTLGFSQGGPNTMAN 475
hu31    EFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTINGSG--QNQQTLKFSVAGPSNMAV 473
hu32    EFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTINGSG--QNQQTLKFSVAGPSNMAV 473
AAV9    EFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTINGSG--QNQQTLKFSVAGPSNMAV 473
SUBS    T--D-----MF----------A---V----WGFNR-QTNTS--AGTKRTQ-TQGSAATFSN
        S  E                            QS NSTPT  TQNSDVN NKNL QGYRD
        N  K                            V  TG Q    T AE L YRLR TRI L
                                        A            RG G      GS  E
                                                                 ND

        --                 -HVR6-        -HVR7-          ---HVR8--
AAV1    QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-----NNSNFTWTGASKYNLNGRESLINPGTAMASHK 528
AAV2    QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADN-----NNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVNPGPAMASHK 527
AAV3-3  QARNWLPGPCYRQQRLSKTANDN-----NNSNFPWTAASKYHLNGRDSLVNPGPAMASHK 528
AAV4-4  FKKNWLPGPSIKQQGFSKTANQNYKIPATGSDSLIKYETHSTLDGRWSALTPGPPMATAG 527
AV5     TYKNWFPGPMGRTQGWNLGSGVN-----RASVSAFATTNRMELEGASYQVPPQPNGMTNN 514
AAV6    QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-----NNSNFTWTGASKYNLNGRESLINPGTAMASHK 528
AAV7    QAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQN-----NNSNFAWTGATKYHLNGRNSLVNPGVAMATHK 530
AAV8    QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQN-----NNSNFAWTAGTKYHLNGRNSLANPGIAMATHK 530
hu31    QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQN-----NNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNPGPAMASHK 528
hu32    QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQN-----NNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNPGPAMASHK 528
AAV9    QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQN-----NNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNPGPAMASHK 528
SUBS    FAK-WL---CIKT-GWNLGSGV------TG-DSLIKYETHST-D-ASYQVP-QTPGMTAG
        TP   F   MG    F K AND      RA NYTFATTNRME E  D ALT  VN   NN
         K        F    L   KA          V P TAG KYN    W II   I
         Y                LD            S       H    E  A
         S                T
```

Фиг. 12 (продолжение)

```
                ----------HVR9----------                                  ----
AAV1    DDEDKFFPMSGVMIFGKESA--GASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNFQ 585
AAV2    DDEEKFFPQSGVLIFGKQGS--EKTNVDIE-KVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQ 584
AAV3-3  DDEEKFFPMHGNLIFGKEGT--TASNAELD-NVMITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANNLQ 585
AAV4-4  PADSKFS-NSQLIFAGPKQN--GNTATVPG-TLIFTSEEELAATNATDTDMWGNLPGGDQ 583
AV5     LQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLEGNMLITSESETQPVNRVAYNVGGQMATNNQ 574
AAV6    DDKDKFFPMSGVMIFGKESA--GASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQ 585
AAV7    DDEDRFFPSSGVLIFGKTGA--TN-KTTLE-NVLMTNEEEIRPTNPVATEEYGIVSSNLQ 586
AAV8    DDEERFFPSNGILIFGKQNA--ARDNADYS-DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGIVADNLQ 587
hu31    EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT--GRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYGQVATNHQ 585
hu32    EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT--GRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYGQVATNHQ 585
AAV9    EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT--GRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYGQVATNHQ 585
SUBS    LQGSNTYAMENTMFANPKQN--TNTATVPG-TLIF-S-S-TQPV-ATDYDMW-NLPGGD-
        PADEK S QHQLI   SESA  EASKAALE-NMLM D    RA  R   NVF TMSN L
        DDK     NN V     TPS  AK  KTY     L      A        QG I  V N
                S  I      N        EI                      E  S  S F
                   N              Y                       R     D

        --HVR10---
AAV1    SSSTDPATGDVHAMGALPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPPP 645
AAV2    RGNRQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 644
AAV3-3  SSNTAPTTGTVNHQGALPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 645
AAV4-4  SNSNLPTVDRLTALGAVPGMVWQNRDIYYQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLIGGFGLKHPPP 643
AV5     SSTTAPATGTYNLQEIVPGSVWMERDVYLQGPIWAKIPETGAHFHPSPAMGGFGLKHPPP 634
AAV6    SSSTDPATGDVHVMGALPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 645
AAV7    AANTAAQTQVVNNQGALPGMVWQNRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP 646
AAV8    QQNTAPQIGTVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP 647
hu31    SAQAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
hu32    SAQAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
AAV9    SAQAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
SUBS    RNSNLPTVDRLTALEAV--S--ME--I-----------E-GAH-----AI----L-N---
        ASNTA AIADYHTM V       N
        QGTRD   QT NH
         Q       V  L
                    V
                    S
                  ---HVR11--
AAV1    QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEVQYTSNY 705
AAV2    QILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 704
AAV3-3  QIMIKNTPVPANPPTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 705
AAV4-4  QIFIKNTPVPANPATTFSSTPVNSFITQYSTGQVSVQIDWEIQKERSKRWNPEVQFTSNY 703
AV5     MMLIKNTPVPGNI-TSFSDVPVSSFITQYSTGQVTVEMEWELKKENSKRWNPEIQYTNNY 693
AAV6    QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEVQYTSNY 705
AAV7    QILIKNTPVPANPPEVFTPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNF 706
AAV8    QILIKNTPVPADPPTTFNQSKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 707
hu31    QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 705
hu32    QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 705
AAV9    QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 705
SUBS    MMM-------G-IAAE-SDVFVS-------------QMD--IK--R-------V------
          F           SET TAA FA
                       S  PT
                       V  QS
                          S
```

Фиг. 12 (продолжение)

```
          -----HVR12-----
AAV1      AKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL 736
AAV2      NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL 735
AAV3-3    NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736
AAV4-4    GQQNSLLWAPDAAGKYTEPRAIGTRYLTHHL 734
AV5       NDPQFVDFAPDSTGEYRTTRPIGTRYLTRPL 724
AAV6      AKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL 736
AAV7      EKQTGVDFAVDSQGVYSEPRPIGTRYLTRNL 737
AAV8      YKSTSVDFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 738
hu31      YKSNNVEFAVSTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736
hu32      YKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736
AAV9      YKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736
SUBS      GQQVSLLWTPDAA-K-RTT-A-------HP-
          NDPQF D    SSN E T            H
          A  TG       NQ L
          E  A         T
```

Фиг. 12 (продолжение)