

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 037561

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.04.14

(21) Номер заявки
201692482

(22) Дата подачи заявки
2015.06.18

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

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ АНТИТЕЛАМИ, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТ РЕЦЕПТОР КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА 1 (CSF1R)

(31) 62/015,710

(32) 2014.06.23

(33) US

(43) 2017.05.31

(86) PCT/US2015/036419

(87) WO 2015/200089 2015.12.30

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ФАЙВ ПРАЙМ ТЕРАПЬЮТИКС,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Хамблтон Джули, Мастеллер Эмма,
Цзанхи Джеймс, Сикорски Роберт,
Сян Хонг (US)

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

(56) WO-A1-2013169264
WO-A1-2014036357
WO-A2-2011140249

(57) Предложены способы лечения заболеваний антителами, которые связывают рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R). Такие способы включают без ограничения способы лечения ревматоидного артрита.

037561

B1

037561

B1

Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США 62/015,710, поданной 23 июня 2014 года, которая полностью включена в настоящую заявку посредством отсылки в любых отношениях.

Область техники, к которой относится изобретение

Предложены способы лечения заболеваний антителами, которые связывают рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R). Такие способы включают, без ограничения, способы лечения ревматоидного артрита.

Уровень техники

Рецептор колониестимулирующего фактора 1 (указанный в настоящей заявке как CSF1R; также называемый в уровне техники FMS, FIM2, C-FMS, M-KCФ рецептор и CD115) является трансмембранным рецептором с одним трансмембранным доменом, N-концевым внеклеточным доменом (ECD) и C-концевым внутриклеточным доменом с тирозинкиназной активностью. Связывание лиганда CSF1 или лиганда интерлейкина 34 (указанного в настоящем описании как IL-34; Lin et al., Science 320: 807-11 (2008)) с CSF1R приводит к димеризации рецептора, апрегуляции протеинтирозинкиназной активности CSF1R, фосфорилированию остатков тирозина в CSF1R и последующим сигнальным событиям. CSF1 и IL-34 стимулируют выживаемость, пролиферацию и дифференцировку моноцитов в макрофаги, а также другие линии моноцитарных клеток, такие как остеокласты, дендритные клетки и микроглию.

Было обнаружено, что многие опухолевые клетки секретируют CSF1, который активирует клетки моноцитов/макрофагов через CSF1R. Было показано, что уровень CSF1 в опухолях коррелирует с уровнем опухолеассоциированных макрофагов (TAM) в опухоли. Было обнаружено, что более высокие уровни TAM коррелируют с более плохими прогнозами для больных. Кроме того, было обнаружено, что CSF1 способствует росту опухоли и прогрессии до метастаза, например, в ксенотрансплантатах рака молочной железы человека у мышей. См., например, Paulus et al., Cancer Res. 66: 4349-56 (2006). Также CSF1R играет роль в остеолитической деструкции кости при костном метастазе. См., например, Ohno et al., Mol. Cancer Ther. 5: 2634-43 (2006).

Было также обнаружено, что CSF1 и его рецептор участвуют в различных воспалительных и аутоиммунных заболеваниях. См., например, Hamilton, Nat. Rev. 8: 533-44 (2008). Например, было обнаружено, что синовиальные эндотелиальные клетки из суставов, пораженных ревматоидным артритом, продуцируют CSF1, что указывает на некую роль CSF1 и его рецептора в болезни. Блокирование активности CSF1R антителом приводит к положительным клиническим эффектам в моделях артрита на мышах, включая уменьшение деструкции костной и хрящевой ткани и уменьшение количеств макрофагов. См., например, Kitaura et al., J. Clin. Invest. 115: 3418-3427 (2005).

Зрелые дифференцированные клетки миелоидных линий, такие как макрофаги, микроглиальные клетки и остеокласты, способствуют патологии различных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, рассеянный склероз и болезни с потерей костной ткани. Дифференцированные клетки миелоидных линий образуются из промежуточных моноцитарных клеток периферической крови. Стимуляция CSF1R способствует развитию моноцитов из костномозговых клеток-предшественников, пролиферации и выживаемости моноцитов, и дифференцировке моноцитов периферической крови в дифференцированные клетки миелоидных линий, такие как макрофаги, микроглиальные клетки и остеокласты. Стимуляция CSF1R, таким образом, способствует пролиферации, выживаемости, активации и созреванию дифференцированных клеток миелоидных линий, и, в патологических условиях, стимуляция CSF1R вносит вклад в способность дифференцированных клеток миелоидных линий опосредовать патологию болезни.

Сущность изобретения

В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения ревматоидного артрита, включающие введение эффективного количества антитела, которое связывает рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R), человеку с ревматоидным артритом, где антитело блокирует связывание колониестимулирующего фактора 1 (CSF1) с CSF1R и блокирует связывание IL-34 с CSF1R, где эффективное количество является достаточным для уменьшения количества CD16⁺ моноцитов у субъекта по меньшей мере на 50% в течение по меньшей мере 4 недель после двух доз. В некоторых вариантах осуществления эффективная доза составляет от 0,2 до 10 мг/кг, или от 1 до 10 мг/кг, или от 1 до 5 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело вводят с частотой один раз в две или больше недель.

В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения ревматоидного артрита. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение антитела, которое связывает рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R), субъекту с ревматоидным артритом, где антитело блокирует связывание колониестимулирующего фактора 1 (CSF1) с CSF1R и блокирует связывание IL-34 с CSF1R, и где антитело вводят в дозе от 0,2 до 10 мг/кг и при частоте введения один раз в две или больше недель. В некоторых вариантах осуществления частота введения составляет менее чем один раз в две недели, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в месяц, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в два месяца, один раз в три месяца или четыре раза в год. В некоторых вариантах осуществления доза составляет от 1 до 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления доза составляет от 3 до 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение одной дозы антитела. В некоторых вариантах осуществления способ включает

введение двух доз антитела. В некоторых вариантах осуществления дозы вводят по меньшей мере с интервалом в одну неделю или по меньшей мере с интервалом в две недели.

В некоторых вариантах осуществления после введения по меньшей мере одной дозы антитела количество CD16+ моноцитов у субъекта уменьшается по меньшей мере на 50%. В некоторых вариантах осуществления количество CD16- моноцитов не уменьшается или уменьшается меньше чем на 20%. В некоторых вариантах осуществления количество CD16+ моноцитов у субъекта уменьшается по меньшей мере на 75%. В некоторых вариантах осуществления количество CD16+ моноцитов уменьшается по меньшей мере на 50% в течение по меньшей мере одной недели, по меньшей мере двух недель, по меньшей мере трех недель, по меньшей мере четырех недель, по меньшей мере пяти недель, по меньшей мере шести недель, по меньшей мере семи недель или по меньшей мере восьми недель. В некоторых вариантах осуществления CD16+ моноциты являются CD16+ моноцитами периферической крови.

В некоторых вариантах осуществления уровень по меньшей мере одного маркера резорбции костной ткани снижается после введения по меньшей мере одной дозы антитела. В некоторых вариантах осуществления уровень по меньшей мере одного маркера резорбции костной ткани снижается по меньшей мере на 20%. В некоторых вариантах осуществления уровень по меньшей мере одного маркера резорбции костной ткани снижается по меньшей мере на 50%. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один маркер резорбции костной ткани выбран из CTx и TRAP5b. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одним маркером резорбции костной ткани является CTx.

В некоторых вариантах осуществления антитело обнаруживается в сыворотке субъекта по меньшей мере через две недели, по меньшей мере через три недели, по меньшей мере через четыре недели, по меньшей мере через один месяц, по меньшей мере через шесть недель или по меньшей мере через два месяца после введения дозы. В некоторых вариантах осуществления антитело обнаруживается в сыворотке субъекта по меньшей мере через четыре недели, по меньшей мере через один месяц, по меньшей мере через шесть недель или по меньшей мере через два месяца после введения дозы. В некоторых вариантах осуществления доза составляет от 3 до 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования антитела в организме субъекта превышает 2 дня. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования антитела превышает 4 дня. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования антитела превышает 15 дней. В некоторых таких вариантах осуществления доза составляет от 3 до 10 мг/кг.

В любом из вариантов осуществления способов, описанных в настоящей заявке, тяжелая цепь антитела и/или легкая цепь антитела может иметь следующую структуру.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, и легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

В некоторых вариантах осуществления HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3 включают ряд последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29. В некоторых вариантах осуществления LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3 включают ряд последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3, где HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3 включают ряд последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29; и легкая цепь включает LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3, где LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3 включают ряд последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

В некоторых вариантах осуществления антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, где антитело включает: (a) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 10; (b) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 12; (c) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, включающую

[illegible]

В некоторых вариантах осуществления антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, где антитело включает: (а) тяжелую цепь, включающую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 15, HC CDR2, имеющую последовательность SEQ ID NO: 16, и HC CDR3, имеющую последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, включающую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, LC CDR2, имеющую последовательность SEQ ID NO: 19, и LC

CDR3, имеющую последовательность SEQ ID NO: 20; (b) тяжелую цепь, включающую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 21, HC CDR2, имеющую последовательность SEQ ID NO: 22, и HC CDR3, имеющую последовательность SEQ ID NO: 23, и легкую цепь, включающую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 24, LC CDR2, имеющую последовательность SEQ ID NO: 25, и LC CDR3, имеющую последовательность SEQ ID NO: 26; или (c) тяжелую цепь, включающую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 27, HC CDR2, имеющую последовательность SEQ ID NO: 28, и HC CDR3, имеющую последовательность SEQ ID NO: 29, и легкую цепь, включающую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 30, LC CDR2, имеющую последовательность SEQ ID NO: 31, и LC CDR3, имеющую последовательность SEQ ID NO: 32.

В некоторых вариантах осуществления антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, где антитело включает: (a) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 60; (b) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 61; или (c) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, где антитело включает: (a) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 60; (b) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 61; или (c) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело выбрано из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')₂. В некоторых вариантах осуществления антитело является химерным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело выбрано из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления антитело является IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело является IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело является IgG4, включающим мутацию S241P по меньшей мере в одной константной области тяжелой цепи IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с человеческим CSF1R и/или связывается с CSF1R яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует связывание лиганда с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует связывание CSF1 и/или IL-34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует связывание CSF1 и IL-34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует лиганд-индуцированное фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует CSF1- и/или IL-34-индуцированное фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с человеческим CSF1R с аффинностью (K_D) меньше 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует реакции пролиферации и/или выживаемости моноцитов в присутствии CSF1 или IL-34.

В некоторых вариантах осуществления предложена фармацевтическая композиция, включающая антитело, которое связывает CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления предложены композиции, включающие антитела, которые связывают CSF1R, для применения в способах лечения человека или животных. В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, которые связывают CSF1R, и композиции, включающие антитела, которые связывают CSF1R, для применения в способе лечения ревматоидного артрита у человека или животного.

Краткое описание фигур

На фиг. 1A-C показано выравнивание гуманизированных переменных областей тяжелых цепей каждого из гуманизированных антител huAb1 - huAb16, обсуждаемых в примере 1. Выделенные рамкой остатки являются аминокислотами в человеческой акцепторной последовательности, которые были заменены обратно на соответствующий мышинный остаток.

На фиг. 2A-C показано выравнивание гуманизированных переменных областей легких цепей каждого из гуманизированных антител huAb1 - huAb16, обсуждаемых в примере 1. Выделенные рамкой аминокислоты являются остатками в человеческой акцепторной последовательности, которые были заменены обратно на соответствующий мышинный остаток.

На фиг. 3A-B показано выведение из сыворотки huAb1 ("FPA008") у людей после однократного введения в указанной дозе, как описано в примере 2.

На фиг. 4 показано выведение из сыворотки huAb1 ("FPA008") у яванского макака и людей после однократного введения в указанной дозе, как описано в примере 2.

На фиг. 5A-B показаны уровни CTx в сыворотке у субъектов (A) с низким уровнем CSF1, которые вероятно получали плацебо, и (b) с высоким уровнем CSF1, которые вероятно получали huAb1, после однократного введения указанной дозы, как описано в примере 3.

На фиг. 6A-B показаны уровни TRAP5b в сыворотке у субъектов (A) с низким уровнем CSF1, кото-

рые вероятно получали плацебо, и (b) с высоким уровнем CSF1, которые вероятно получали huAb1, после однократного введения указанной дозы, как описано в примере 3.

На фиг. 7 показана супрессия неклассических CD16+ моноцитов у субъектов в каждой группе введения (включая группы плацебо и huAb1) после однократного введения указанной дозы, как описано в примере 4.

На фиг. 8 показаны классические CD16- моноциты у субъектов в каждой группе введения (включая группы плацебо и huAb1) после однократного введения указанной дозы, как описано в примере 4.

На фиг. 9A-B показаны (A) уровни CSF1 в сыворотке и (B) уровни IL34 в сыворотке у субъектов, которые вероятно получали huAb1.

На фиг. 10 показана концентрация huAb1 в сыворотке в динамике у здоровых добровольцев (треугольники) и больных РА (незакрашенные кружки) после введения двух доз с интервалом две недели.

На фиг. 11 показано уменьшение неклассических CD16+ моноцитов у здоровых добровольцев после двух доз huAb1 ("FPA008").

На фиг. 12 показано уменьшение неклассических CD16+ моноцитов у больных РА после двух доз huAb1.

Подробное описание

Предложены способы лечения заболеваний, включающие введение антител, которые связывают CSF1R и блокируют связывание лигандов CSF1 и IL-34. Как обсуждается в настоящем описании, антитела, которые связывают CSF1R и блокируют связывание лигандов CSF1 и IL-34, являются эффективными для лечения ревматоидного артрита. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что введение таких антител людям уменьшало количество CD16+ моноцитов периферической крови у яванских макаков, но при этом не влияет на количество CD16- моноцитов периферической крови. CD16+ моноциты периферической крови являются моноцитами с высокой воспалительной активностью. См., например, Ziegler-Heitbrock, J. *Leukocyte Biol.*, 2007, 81: 584-592. Хотя ранее было установлено, что введение таких антител яванским макакам уменьшало количество CD16+ моноцитов, действие, наблюдаемое у людей, является существенно и неожиданно более длительным по сравнению с действием у яванского макака. Фактически, при однократной дозе лишь 1 мг/кг уровни CD16+ моноцитов были существенно супрессированы в течение по меньшей мере недели. При дозе 3 мг/кг уровни CD16+ моноцитов были по существу супрессированы в течение по меньшей мере четырех недель, тогда как однократная доза 10 мг/кг вызывала супрессию уровней CD16+ моноцитов в течение по меньшей мере восьми недель. Кроме того, введение таких антител людям также вызывало снижение уровней CTx в сыворотке и демонстрировало тенденцию к снижению уровней TRAP5b в сыворотке, при этом CTx и TRAP5b являются маркерами резорбции костной ткани. В совокупности эти результаты дают основание предположить, что антитела, которые связывают CSF1R и блокируют связывание лигандов CSF1 и IL-34, будут являться эффективным лечением ревматоидного артрита с нечастым введением.

Заголовки разделов, используемые в настоящем описании, служат исключительно в организационных целях и не должны рассматриваться в качестве ограничения описанного объекта изобретения. Все источники, цитируемые в настоящем описании, включая заявки на патенты и патентные публикации, полностью включены посредством отсылок.

Определения

Если не определено иное, научно-технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, должны иметь значения, которые обычно известны средним специалистам в данной области техники. Кроме того, если из контекста не следует иное, термины в форме единственного числа должны включать множества, и термины в форме множественного числа должны включать форму единственного числа.

Примеры методик, используемых в отношении рекомбинантной ДНК, синтеза олигонуклеотидов, культуры тканей и трансформации (например, электропорации, липофекции), ферментных реакций, а также методики очистки, известны в уровне техники. Множество таких методик и процедур описаны, например, в Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), среди прочих источников. Кроме того, примеры методик химических синтезов, химических анализов, получения, производства и применения лекарственных препаратов, и лечения больных также известны в уровне техники.

В настоящей заявке использование "или" означает "и/или", если не указано иное. В рамках зависимого пункта формулы изобретения использование "или" обратно относится более чем к одному предыдущему независимому или зависимому пункту формулы изобретения только в качестве альтернативы. Кроме того, такие термины, как "элемент" или "компонент", охватывают и элементы, и компоненты, включающие одну единицу, а также элементы и компоненты, которые включают более чем одну субединицу, если прямо не указано иное.

При использовании в соответствии с настоящим описанием подразумевается, что следующие термины, если не указано иное, должны иметь следующие значения:

Термины "молекула нуклеиновой кислоты" и "полинуклеотид" могут использоваться попеременно и относятся к полимеру из нуклеотидов. Такие полимеры из нуклеотидов могут содержать природные

и/или искусственные нуклеотиды и включают, без ограничения, ДНК, РНК и ПНК. "Последовательность нуклеиновой кислоты" относится к линейной последовательности нуклеотидов, которые включают молекулу нуклеиновой кислоты или полинуклеотид.

Термины "полипептид" и "белок" используются попеременно для обозначения полимера из аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Такие полимеры из аминокислотных остатков могут содержать остатки природных или искусственных аминокислот и включают, без ограничения, пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры из аминокислотных остатков. Данным определением охвачены как полноразмерные белки, так и их фрагменты. Термины также включают постэкспрессионные модификации полипептида, например, гликозилирование, сиамирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п. Кроме того, в рамках настоящего изобретения "полипептид" относится к белку, который включает модификации, такие как делеции, добавления и замены (как правило, консервативного характера), в нативной последовательности, при условии, что белок сохраняет требуемую активность. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, в результате сайт-направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, в результате мутаций организмов-хозяев, которые производят белки, или в результате ошибок при ПЦР-амплификации.

Термин "CSF1R" относится в настоящем описании к полноразмерному CSF1R, который включает N-концевую ECD, трансмембранный домен и внутриклеточный тирозинкиназный домен, с или без N-концевой лидерной последовательности. В некоторых вариантах осуществления CSF1R является человеческим CSF1R, имеющим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

Термин "внеклеточный домен CSF1R" ("ECD CSF1R") при использовании в настоящем описании относится к полипептиду CSF1R, который не имеет внутриклеточного и трансмембранного доменов. Домены ECD CSF1R включают полноразмерный ECD CSF1R и фрагменты ECD CSF1R, которые способны к связыванию CSF1R и/или IL-34. Человеческий полноразмерный ECD CSF1R определен в настоящем описании как включающий любые аминокислоты 1-512 (то есть включающий лидерную последовательность) или аминокислоты 20-512 (то есть не имеющий лидерной последовательности) SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления фрагмент человеческого ECD CSF1R включает аминокислоты 20-506 из SEQ ID NO: 2 (см. SEQ ID NO: 5). В некоторых вариантах осуществления человеческий фрагмент CSF1R оканчивается на аминокислоте 507, 508, 509, 510 или 511. В некоторых вариантах осуществления ECD CSF1R супо включает последовательность SEQ ID NO: 7 (с лидерной последовательностью) или аминокислоты 20-506 из SEQ ID NO: 7 (без лидерной последовательности).

В отношении антител против CSF1R термины "активный" или "активность", или "функция", а также их грамматические варианты, используются для обозначения способности ингибировать (блокирующие или антагонистические антитела) или имитировать (агонистические антитела) по меньшей мере одну из предыдущих активностей. Антитела и фрагменты антител, называемые "функциональными", отличаются наличием таких свойств.

"Иммунологическая" активность относится только к способности индуцировать продукцию антитела против антигенного эпитопа, которым обладает нативный или природный полипептид CSF1R.

Термин "антитело" при использовании в настоящем описании относится к молекуле, включающей по меньшей мере определяющую комплементарность область (CDR) 1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и, по меньшей мере, CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, где молекула способна к связыванию с антигеном. Термин антитело включает, без ограничения, фрагменты, которые являются способными к связыванию с антигеном, такие как Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab' и (Fab')₂. Термин антитело также включает, без ограничения, химерные антитела, гуманизированные антитела и антитела из организмов различных видов, таких как мышь, человек, яванский макак и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело включает переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело включает по меньшей мере одну тяжелую цепь, включающую переменную область тяжелой цепи и, по меньшей мере, часть константной области тяжелой цепи и по меньшей мере одну легкую цепь, включающую переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело включает две тяжелых цепи, где каждая тяжелая цепь включает переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и две легких цепи, где каждая легкая цепь включает переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. При использовании в настоящем описании одноцепочечный Fv (scFv) или любое другое антитело, которые включают, например, одну полипептидную цепь, включающую все шесть CDR (три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи), как полагают, имеют тяжелую цепь и легкую цепь. В некоторых таких вариантах осуществления тяжелая цепь является областью антитела, которая включает три CDR тяжелой цепи, и легкая цепь является областью антитела, которая включает три CDR легкой цепи.

Термин "переменная область тяжелой цепи" при использовании в настоящем описании относится к области, включающей CDR1 тяжелой цепи, каркасную область (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи также включает, по меньшей мере, часть FR1 и/или, по меньшей мере, часть FR4. В некоторых вариантах осуществления CDR1 тяжелой

цепи соответствует остаткам 26-35 согласно нумерации Кэбата; CDR2 тяжелой цепи соответствует остаткам 50-65 согласно нумерации Кэбата; и CDR3 тяжелой цепи соответствует остаткам 95-102 согласно нумерации Кэбата. См., например, *Rabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (1987 and 1991, NIH, Bethesda, Md.); и фиг. 1. В некоторых вариантах осуществления CDR1 тяжелой цепи соответствует остаткам 31-35 согласно нумерации Кэбата; CDR2 тяжелой цепи соответствует остаткам 50-65 согласно нумерации Кэбата; и CDR3 тяжелой цепи соответствует остаткам 95-102 согласно нумерации Кэбата. См. там же.

Термин "константная область тяжелой цепи" при использовании в настоящем описании относится к области, включающей по меньшей мере три константных домена тяжелой цепи, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи включают γ , δ и α . Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи также включают ϵ и μ . Каждая тяжелая константная область соответствует изотипу антитела. Например, антитело, включающее константную область γ , является антителом IgG, антитело, включающее константную область δ , является антителом IgD, и антитело, включающее константную область α , является антителом IgA. Кроме того, антитело, включающее константную область μ , является антителом IgM, и антитело, включающее константную область ϵ , является антителом IgE. Некоторые изотипы также могут подразделяться на субклассы.

Например, антитела IgG включают, без ограничения, антитела IgG1 (включающее константную область γ_1), IgG2 (включающее константную область γ_2), IgG3 (включающее константную область γ_3) и IgG4 (включающее константную область γ_4); антитела IgA включают, без ограничения, антитела IgA1 (включающее константную область α_1) и IgA2 (включающее константную область α_2); и антитела IgM включают, без ограничения, IgM1 и IgM2.

В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи включает одну или более мутаций (или замен), добавлений или делеций, которые придают антителу требуемое свойство. Неограничивающим примером мутации является мутация S241P в шарнирной области IgG4 (между константными доменами C_{H1} и C_{H2}), которая меняет мотив CPSCP в IgG4 на CPPCP, который аналогичен соответствующему мотиву в IgG1. Такая мутация в некоторых вариантах осуществления приводит к более стабильному антителу IgG4. См., например, Angal et al., *Mol. Immunol.* 30: 105-108 (1993); Bloom et al., *Prot. Sci.* 6: 407-415 (1997); Schuurman et al., *Mol. Immunol.* 38: 1-8 (2001).

Термин "тяжелая цепь" при использовании в настоящем описании относится к полипептиду, включающему по меньшей мере переменную область тяжелой цепи, с или без лидерной последовательности. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает, по меньшей мере, часть тяжелой цепи константной области. Термин "полноразмерная тяжелая цепь" при использовании в настоящем описании относится к полипептиду, включающему переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, с или без лидерной последовательности.

Термин "переменная область легкой цепи" при использовании в настоящем описании относится к области, включающей CDR1 легкой цепи, каркасную область (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи также включает FR1 и/или FR4. В некоторых вариантах осуществления CDR1 легкой цепи соответствует остаткам 24-34 согласно нумерации Кэбата; CDR2 легкой цепи соответствует остаткам 50-56 согласно нумерации Кэбата; и CDR3 легкой цепи соответствует остаткам 89-97 согласно нумерации Кэбата. См., например, *Rabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (1987 and 1991, NIH, Bethesda, Md.); и фиг. 1.

Термин "константная область легкой цепи" при использовании в настоящем описании относится к области, включающей константный домен легкой цепи, C_L . Неограничивающие примеры константных областей легкой цепи включают λ и κ .

Термин "легкая цепь" при использовании в настоящем описании относится к полипептиду, включающему, по меньшей мере, переменную область легкой цепи, с или без лидерной последовательности. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает, по меньшей мере, часть константной области легкой цепи. Термин "полноразмерная легкая цепь" при использовании в настоящем описании относится к полипептиду, включающему переменную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с или без лидерной последовательности.

"Химерное антитело" при использовании в настоящем описании относится к антителу, включающему по меньшей мере одну переменную область из первого биологического вида (такого как мышь, крыса, яванский макак и т.д.) и по меньшей мере одну константную область из второго биологического вида (такого как человек, яванский макак и т.д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело включает по меньшей мере одну мышиную переменную область и по меньшей мере одну человеческую константную область. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело включает по меньшей мере одну переменную область яванского макака и по меньшей мере одну человеческую константную область. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело включает по меньшей мере одну крысиную переменную область и по меньшей мере одну мышиную константную область. В некоторых вариантах осуществления все переменные области химерного антитела получены из первого биологического вида, а все константные области химерного антитела получены из второго биологического

ского вида.

"Гуманизированное антитело" при использовании в настоящем описании относится к антителу, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области нечеловеческой вариабельной области была заменена соответствующей аминокислотой из человеческой вариабельной области. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело включает по меньшей мере одну человеческую константную область или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело является Fab, scFv, (Fab')₂ и т.д.

"CDR-привитое антитело" при использовании в настоящем описании относится к гуманизированному антителу, в котором определяющие комплементарность области (CDR) первого (не относящегося к человеку) биологического вида были привиты на каркасные области (FR) второго (относящегося к человеку) биологического вида.

"Человеческое антитело" при использовании в настоящем описании относится к антителам, вырабатываемым у людей, антителам, вырабатываемым у не относящихся к человеку животных, которые включают человеческие гены иммуноглобулинов, таким как XenoMouse®, и антителам, отобранным при использовании *in vitro* методов, таких как фаговый дисплей, где репертуар антител основан на человеческих иммуноглобулиновых последовательностях.

Термин "лидерная последовательность" относится к последовательности из аминокислотных остатков, расположенной на N-конце полипептида, которая способствует секреции полипептида из клетки млекопитающего. Лидерная последовательность может быть отщеплена после экспорта полипептида из клетки млекопитающего, с образованием зрелого белка. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, при этом они могут быть гетерологичными или гомологичными по отношению к белку, к которому они присоединены. Примеры лидерных последовательностей включают, без ограничения, лидерные последовательности антител, такие как, например, аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3 и 4, которые соответствуют лидерным последовательностям легких и тяжелых цепей человека, соответственно. Неограничивающие примеры лидерных последовательностей также включают лидерные последовательности из гетерологичных белков. В некоторых вариантах осуществления антитело не имеет лидерной последовательности. В некоторых вариантах осуществления антитело включает по меньшей мере одну лидерную последовательность, которая может быть выбрана из нативных лидерных последовательностей антител и гетерологичных лидерных последовательностей.

Термин "вектор" используется для описания полинуклеотида, который может быть сконструирован так, чтобы он содержал клонируемый полинуклеотид или полинуклеотиды, которые могут реплицироваться в клетке-хозяине. Вектор может включать один или более следующих элементов: точку начала репликации, одну или более регуляторных последовательностей (таких как, например, промоторы и/или энхансеры), которые регулируют экспрессию представляющего интерес полипептида, и/или один или более селективных маркерных генов (таких как, например, гены устойчивости к антибиотикам и гены, которые могут использоваться в колориметрических анализах, например, β-галактозидаза). Термин "вектор экспрессии" относится к вектору, который используется для экспрессии представляющего интерес полипептида в клетке-хозяине.

"Клетка-хозяин" относится к клетке, которая может быть или являлась реципиентом вектора или выделенного полинуклеотида. Клетки-хозяева могут быть прокариотическими клетками или эукариотическими клетками. Примеры эукариотических клеток включают клетки млекопитающих, такие как клетки приматов или клетки не относящихся к приматам животных; клетки грибов, таких как дрожжи; клетки растений; и клетки насекомых. Неограничивающие примеры клеток млекопитающих включают, без ограничения, клетки NSO, клетки PER.C6® (Crucell) и клетки 293 и CHO, а также их производные, такие как клетки 293-6E и DG44, соответственно.

Термин "выделенный" при использовании в настоящем описании относится к молекуле, которая была отделена, по меньшей мере, от некоторых из компонентов, с которыми ее обычно обнаруживают в природе. Например, полипептид называют "выделенным", когда он отделен, по меньшей мере, от некоторых из компонентов клетки, в которой он был синтезирован. Когда полипептид секретируется клеткой после экспрессии, физическое отделение супернатанта, содержащего полипептид из клетки, в которой он был синтезирован, считается "выделением" полипептида. Аналогичным образом, полинуклеотид называют "выделенным", когда он не является частью более крупного полинуклеотида (такого как, например, геномная ДНК или митохондриальная ДНК, в случае ДНК полинуклеотида), в котором его обычно обнаруживают в природе, или отделен, по меньшей мере, от некоторых из компонентов клетки, в которой он был синтезирован, например, в случае РНК полинуклеотида. Таким образом, ДНК полинуклеотид, который содержится в векторе в клетке-хозяине, может быть указан как "выделенный" при условии, что такой полинуклеотид не присутствует в таком векторе в природе.

Термины "субъект" и "больной" используются в настоящем описании попеременно для обозначения человека. В некоторых вариантах осуществления также предложены способы лечения других млекопитающих, включающих, без ограничения перечисленными, грызунов, обезьян, кошачьих, псовых, лошадиных, бычьих, свинообразных, овец, коз, лабораторных млекопитающих, сельскохозяйственных млеко-

питающих, спортивных млекопитающих и домашних млекопитающих.

При использовании в настоящем описании "ревматоидный артрит" или "РА" относится к подтвержденному состоянию болезни, которое может быть диагностировано согласно пересмотренным в 2000 году критериям Американской ревматологической ассоциации для классификации РА или любым подобным критериям. В некоторых вариантах осуществления термин "ревматоидный артрит" относится к хроническому аутоиммунному заболеванию, характеризующему, прежде всего, воспалением выстилки (синовиальной оболочки) суставов, которое может приводить к повреждению суставов, вызывающему хроническую боль, потерю функции и инвалидизацию. Поскольку РА может воздействовать на многие органы тела, включая кожу, легкие и глаза, его называют системным заболеванием.

Термин "ревматоидный артрит" включает не только активный и ранний РА, но также и начальный РА, как определено ниже. Физиологические показатели РА включают симметричное опухание суставов, которое характерно, хотя и не является непереносимым при РА. Веретенообразное опухание проксимальных межфаланговых (ПМФ) суставов рук, а также пястно-фаланговых (ПФ), обычно часто поражаются запястья, локти, колени, лодыжки и плюснефаланговые (ПЛФ) суставы, при этом опухание легко обнаруживается. Боль при пассивном движении является наиболее чувствительным тестом на воспаление сустава, причем воспаление и структурная деформация часто ограничивают диапазон движения пораженного сустава. Типичные видимые изменения включают локтевое отведение пальцев в ПФ суставах, переразгибание или пересгибание ПФ и ПМФ суставов, сгибательные контрактуры локтей и подвывих запястных костей и пальцев ног. Субъект с РА может быть резистентным к болезням-модифицирующему противоревматическому средству (БМПРС) и/или нестероидному противовоспалительному средству (НПВС). Неограничивающие примеры "БМПРС" включают гидроксихлорохин, сульфасалазин, метотрексат (MTX), лефлуномид, этанерцепт, инфликсимаб (плюс MTX перорально и подкожно), имуран, Д-пеницилламин, соли золота (перорально), соли золота (внутримышечно), миноциклин, циклоспорин, включая циклоспорин А и циклоспорин для наружного применения, стафилококковый белок А (Good-year and Silverman, J. Exp. Med., 197(9):1125-1139 (2003)), включая их соли и производные, и т.д. Другие кандидаты для терапии согласно настоящему изобретению включают тех, которые испытывали неадекватную реакцию на предыдущее или текущее лечение ингибиторами ФНО, такими как этанерцепт, инфликсимаб и/или адалимумаб вследствие токсичности или недостаточной эффективности.

Больной с "активным ревматоидным артритом" означает больного с активными и нелатентными симптомами РА. Субъекты с "ранним активным ревматоидным артритом" являются субъектами с активным РА, который диагностировали в течение по меньшей мере 8 недель, но не больше чем четыре года назад, согласно пересмотренным в 1987 году критериям ACR для классификации РА.

Субъекты с "ранним ревматоидным артритом" являются субъектами с РА, который диагностировали в течение по меньшей мере восьми недель, но больше чем четыре года назад, согласно пересмотренным в 1987 году критериям ACR для классификации РА. РА включает, например, ювенильный РА, ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) или ювенильный РА (ЮРА).

Больные с "начальным ревматоидным артритом" имеют ранний полиартрит, который не полностью соответствует критериям ACR для диагноза РА, в сочетании с наличием РА-специфических прогностических биомаркеров, таких как антитела к ЦЦП и общий эпителий. Они включают пациентов с положительными антителами к ЦЦП, у которых присутствует полиартрит, но еще нет диагноза РА, и которые подвергаются высокому риску продолжения развития истинных ACR критериев РА (вероятность 95%).

"Повреждение сустава" используется в самом широком смысле и относится к повреждению или частичному или полному разрушению любой части одного или более суставов, включая соединительную ткань и хрящ, где повреждение включает структурное и/или функциональное повреждение любой причины и может вызывать или не вызывать боль в суставах/артралгию. Это включает, без ограничения, повреждение суставов, связанное с или вызванное воспалительным заболеванием суставов, а также невоспалительным заболеванием суставов. Это повреждение может быть вызвано любым состоянием, таким как аутоиммунное заболевание, в особенности артрит, и особенно РА. Примеры таких состояний включают острый и хронический артрит, ревматоидный артрит (включая ювенильный РА, ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) и ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА)), а также стадии, такие как ревматоидный синовит, подагра или подагрический артрит, острый иммунологический артрит, хронический воспалительный артрит, дегенеративный артрит, вызванный коллагеном II типа артрит, инфекционный артрит, септический артрит, артрит Лайма, пролиферативный артрит, псориатический артрит, болезнь Стилла, артрит позвоночника, остеоартроз, артрит хронический прогрессирующий, артрит деформирующий, полиартрит хронический первичный, реактивный артрит, климактерический артрит, артрит в результате снижения уровня эстрогенов и анкилозирующий спондилит/ревматоидный спондилит), ревматическое аутоиммунное заболевание кроме РА и значительное системное поражение на фоне РА (включающее, без ограничения, васкулит, фиброз легких или синдром Фелти). В рамках настоящего описания, суставы являются точками контакта между элементами скелета (позвоночного, такого как животноное), части которых окружают и поддерживают его и включают, без ограничения, например, бедра, суставы между позвонками позвоночного столба, суставы между позвоночным столбом и тазом (крестцово-подвздошные сочленения), суставы, в которых сухожилия и связки присоединены к костям, суставы меж-

ду ребрами и позвоночным столбом, плечи, колени, стопы, локти, кисти рук, пальцы, лодыжки и пальцы ног, но особенно суставы в кистях рук и стопах.

Термин "CD16+ нарушение" означает заболевание, при котором CD16+ моноциты млекопитающего вызывают, опосредуют или иным образом способствуют развитию патологии у млекопитающего. Также включены заболевания, при которых снижение CD16+ моноцитов оказывает благоприятное воздействие на прогрессию болезни. В рамки данного термина включены CD16+ воспалительные заболевания, инфекционные заболевания, иммунодефицитные заболевания, неоплазия и т.д. В некоторых вариантах осуществления CD16+ воспалительные заболевания включают воспалительные заболевания, которые не поддаются терапии метотрексатом. В некоторых вариантах осуществления CD16+ воспалительные заболевания включают метотрексат-резистентный ревматоидный артрит, метотрексат-резистентный рассеянный склероз, метотрексат-резистентную волчанку, метотрексат-резистентное воспалительное заболевание кишечника, метотрексат-резистентную болезнь Крона, метотрексат-резистентную астму и метотрексат-резистентный псориаз. В некоторых вариантах осуществления больные, имеющие метотрексат-резистентные заболевания, такие как метотрексат-резистентный ревматоидный артрит, указаны как больные с неполным ответом на метотрексат или больные с недостаточным ответом на метотрексат.

Примеры CD16+ нарушений, которые можно лечить согласно изобретению, включают, без ограничения перечисленными, системную красную волчанку, ревматоидный артрит, ювенильный хронический артрит, спондилоартропатии, системный склероз (склеродермию), идиопатические воспалительные миопатии (дерматомиозит, полимиозит), синдром Шегрена, системный васкулит, саркоидоз, аутоиммунную гемолитическую анемию (иммунную панцитопению, пароксизмальную ночную гемоглобинурию), аутоиммунную тромбоцитопению (идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, иммуноопосредованную тромбоцитопению), тиреоидит (болезнь Грейвса, тиреоидит Хашимото, ювенильный лимфоцитарный тиреоидит, атрофический тиреоидит), сахарный диабет, иммуноопосредованную болезнь почек (гломерулонефрит, тубулоинтерстициальный нефрит), демиелинизирующие заболевания центральной и периферической нервных систем, такие как рассеянный склероз, идиопатическую демиелинизирующую полинейропатию или синдром Гийена-Барре и хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию, заболевания печени и желчевыводящих путей, такие как инфекционный гепатит (гепатит А, В, С, D, Е и другие негепатотропные вирусы), аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), включая неспецифический язвенный колит: болезнь Крона, глютеную энтеропатию и болезнь Уиппла, аутоиммунные или иммуноопосредованные кожные заболевания, включая буллезные кожные заболевания, многоформную экссудативную эритему и контактный дерматит, псориаз, аллергические заболевания, такие как астму, аллергический ринит, аллергический дерматит, пищевую гиперчувствительность и крапивницу, иммунологические заболевания легких, такие как эозинофильную пневмонию, идиопатический фиброз легких и пневмонит гиперчувствительности, связанные с трансплантацией заболевания, включающие отторжение трансплантата и реакцию трансплантат против хозяина; фиброз, включая почечный фиброз и печеночный фиброз, сердечнососудистое заболевание, включая атеросклероз и ишемическую болезнь сердца, сердечно-сосудистые явления, связанные с хроническим заболеванием почек, инфарктом миокарда и застойной сердечной недостаточностью, диабет, включая диабет II типа, облитерирующий бронхит с организующейся пневмонией (ОБОП), гемофагоцитарный синдром, синдром активации макрофагов, саркоидоз и периодонтит. Инфекционные заболевания, включая вирусные заболевания, такие как СПИД (ВИЧ-инфекция), гепатит А, В, С, D и Е, герпес и т.д., бактериальные инфекции, микозы, протозойные инфекции и паразитарные инфекции.

"Лечение" при использовании в настоящем описании относится к терапевтическому лечению и к профилактическим или превентивным мерам, когда цель заключается в предотвращении или замедлении (уменьшении тяжести) целевого патологического состояния или нарушения. В некоторых вариантах осуществления термин "лечение" охватывает любое введение или применение терапевтического средства при заболевании у млекопитающего, включая человека, и включает ингибирование или замедление заболевания или прогрессии заболевания; частичное или полное устранение заболевания, например, вызывая регрессию или возобновление или восстановление утерянной, отсутствующей или нарушенной функции; стимуляцию неэффективного процесса; или уменьшение тяжести плато заболевания. Термин "лечение" также включает уменьшение тяжести любой фенотипической характеристики и/или уменьшение числа случаев, степени или вероятности появления такой характеристики. Лица, нуждающиеся в лечении, включают лиц, которые уже имеют нарушение, а также лиц, склонных к развитию нарушения, или лиц, у которых требуется предотвратить развитие нарушения.

"Длительное" введение относится к введению средства в непрерывном режиме, в противоположность ударному режиму, с целью сохранения начального терапевтического действия (активности) в течение длительного периода времени. "Периодическое" введение является лечением, которое не осуществляется последовательно без прерывания, а скорее является циклическим по своему характеру.

Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" относится к количеству лекарственного средства, эффективного для лечения заболевания или нарушения у субъекта. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество относится к количеству, эффективному, в

необходимых дозировках и в течение необходимых периодов времени, для достижения требуемого терапевтического или профилактического результата. Терапевтически эффективное количество антитела против CSF1R изобретения может изменяться в зависимости от таких факторов, как состояние болезни, возраст, пол и вес лица, а также от способности антитела против CSF1R вызывать требуемый ответ у лица. Терапевтически эффективное количество охватывает количество, в котором любые токсические или нежелательные воздействия антитела против CSF1R перевешиваются терапевтически благоприятными воздействиями.

"Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному, в необходимых дозировках и в течение необходимых периодов времени, для достижения требуемого профилактического результата. Как правило, но не обязательно, поскольку профилактическая доза используется у субъектов до или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество может быть меньше терапевтически эффективного количества.

Введение "в комбинации с" одним или более другими терапевтическими средствами включает одновременное (параллельное) и последовательное введение в любом порядке.

"Фармацевтически приемлемый носитель" относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательному веществу или носителю, стандартному в данной области техники для применения с терапевтическим средством, которые вместе составляют "фармацевтическую композицию" для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель является нетоксичным для реципиентов в применяемых дозировках и концентрациях и является совместимым с другими компонентами лекарственной формы.

Фармацевтически приемлемый носитель подходит для применяемой лекарственной формы. Например, если терапевтическое средство надлежит вводить перорально, носитель может быть желатиновой капсулой. Если терапевтическое средство надлежит вводить подкожно, носитель в идеальном варианте не раздражает кожу и не вызывает реакции на участке инъекции.

Антитела против CSF1R

Антитела против CSF1R включают, без ограничения, гуманизированные антитела, химерные антитела, мышинные антитела, человеческие антитела и антитела, включающие CDR тяжелой цепи и/или легкой цепи, обсуждаемые в настоящей заявке.

Примеры гуманизированных антител

В некоторых вариантах осуществления предложены гуманизированные антитела, которые связывают CSF1R.

Гуманизированные антитела могут применяться в качестве терапевтических молекул, поскольку гуманизированные антитела уменьшают или исключают иммунный ответ у человека против нечеловеческих антител (такой как ответ человеческих антител против иммуноглобулинов мыши (HAMA)), который может приводить к иммунному ответу против терапевтического антитела и уменьшать эффективность терапевтического средства.

Неограничивающие примеры гуманизированных антител включают huAb1 - huAb16, описанные в настоящей заявке. Неограничивающие примеры гуманизированных антител также включают антитела, включающие переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из huAb1 - huAb16 и/или переменной области легкой цепи антитела, выбранного из huAb1 - huAb16. Неограничивающие примеры гуманизированных антител включают антитела, включающие переменную область тяжелой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 39-45, и/или переменную область легкой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 46-52. Примеры гуманизированных антител также включают, без ограничения, гуманизированные антитела, включающие CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311.

В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R включает CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры гуманизированных антител против CSF1R включают антитела, включающие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, выбранные из: SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и SEQ ID NO: 27, 28 и 29. Неограничивающие примеры гуманизированных антител против CSF1R также включают антитела, включающие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, выбранные из: SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

Неограничивающие примеры гуманизированных антител против CSF1R включают антитела, включающие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи в Таблице 1 (показаны SEQ ID NO; последовательности см. в табл. 8). В каждой строке табл. 1 показаны CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи примера антитела.

Таблица 1. CDR тяжелой цепи и легкой цепи

Ат	Тяжелая цепь			Легкая цепь		
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID
0301	15	16	17	18	19	20
0302	21	22	23	24	25	26
0311	27	28	29	30	31	32

Другие примеры гуманизированных антител

В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность вариебельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, и где антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R включает легкую цепь, включающую последовательность вариебельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность вариебельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, включающую последовательность вариебельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; где антитело связывает CSF1R.

При использовании в настоящем описании, является ли специфический полипептид, например, по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, можно определить с помощью, например, компьютерной программы. При определении, является ли специфическая последовательность, например, на 95% идентичной референсной последовательности, процент идентичности вычисляют по полной длине референсной аминокислотной последовательности.

В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R включает по меньшей мере один из CDR, обсуждаемых в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R включает по меньшей мере один CDR, выбранный из CDR1 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR2 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR3 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR1 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR2 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, и CDR3 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело против CSF1R включает по меньшей мере один мутантный CDR на основе CDR, обсуждаемого в настоящей заявке, где мутантный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены по сравнению с CDR, обсуждаемым в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в данной области техники может выбрать одну или более подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где подходящие консервативные аминокислотные замены не предполагают значительного изменения связывающих свойств антитела, включающего мутантный CDR.

Примеры гуманизированных антител против CSF1R также включают антитела, которые конкурируют за связывание с CSF1R с антителом, описанным в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предложено гуманизированное антитело против CSF1R, которое конкурирует за связывание с CSF1R с антителом, выбранным из Fabs 0301, 0302 и 0311; и вариантами бивалентных (то есть имеющих две тяжелых цепи и две легких цепи) антител на основе указанных Fabs.

Примеры гуманизированных константных областей антител В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, описанное в настоящей заявке, включает одну или более человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область тяжелой цепи имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область легкой цепи имеет изотип, выбранный из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осу-

ществления гуманизированное антитело, описанное в настоящей заявке, включает мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область IgG4 человека и человеческую к легкую цепь.

Выбор константной области тяжелой цепи может определять, будет ли антитело обладать эффекторной функцией *in vivo*. Такая эффекторная функция в некоторых вариантах осуществления включает антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC) и/или комплементзависимую цитотоксичность (CDC), и может приводить к киллингу клетки, с которой связывается антитело. В некоторых способах лечения, включая способы лечения некоторых типов рака, киллинг клеток может требоваться, например, когда антитело связывается с клеткой, которая способствует поддержанию или росту опухоли. Примеры клеток, которые могут способствовать поддержанию или росту опухоли, включают, без ограничения, опухолевые клетки непосредственно, клетки, которые способствуют развитию сосудистой сети в опухоли, и клетки, которые обеспечивают лиганды, факторы роста или контррецепторы, которые способствуют или поддерживают рост опухоли или выживаемость опухоли. В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают антитело против CSF1R, включающее тяжелую цепь IgG1 человека или тяжелую цепь IgG3 человека.

В некоторых способах лечения эффекторная функция может быть нежелательной. Например, в некоторых вариантах осуществления может быть желательным, чтобы антитела, применяемые в лечении РА, не имели эффекторной функции. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитела против CSF1R, разработанные для лечения рака, могут не подходить для применения в лечении РА. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R, которое не обладает значимой эффекторной функцией, применяется в лечении РА. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R для лечения РА включает константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG4 включает мутацию S241P.

Антитело может быть гуманизировано любым способом. Неограничивающие примеры способов гуманизации включают способы, описанные, например, в патентах США 5,530,101; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; 6,180,370; Jones et al., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332: 323-27 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239: 1534-36 (1988); и в патентной публикации США 2009/0136500.

Как отмечено выше, гуманизированное антитело является антителом, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области нечеловеческой вариабельной области была заменена аминокислотой из соответствующего положения в человеческой каркасной области. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 20 аминокислот в каркасных областях нечеловеческой вариабельной области заменены аминокислотой из одного или более соответствующих положений в одной или более человеческих каркасных областях.

В некоторых вариантах осуществления некоторые из соответствующих человеческих аминокислот, используемых для замены, происходят из каркасных областей различных человеческих генов иммуноглобулинов. Таким образом, в некоторых таких вариантах осуществления одна или более нечеловеческих аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из человеческой каркасной области первого человеческого антитела или могут кодироваться первым человеческим геном иммуноглобулина, одна или более нечеловеческих аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из человеческой каркасной области второго человеческого антитела или могут кодироваться вторым человеческим геном иммуноглобулина, одна или более нечеловеческих аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из человеческой каркасной области третьего человеческого антитела или могут кодироваться третьим человеческим геном иммуноглобулина, и т.д. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления все соответствующие человеческие аминокислоты, используемые для замены в одной каркасной области, например, FR2, не должны обязательно происходить из одного и того же человеческого каркаса. В некоторых вариантах осуществления, тем не менее, все соответствующие человеческие аминокислоты, используемые для замены, происходят из одного и того же человеческого антитела или кодируются одним и тем же человеческим геном иммуноглобулина.

В некоторых вариантах осуществления антитело гуманизировано путем полной замены одной или более каркасных областей соответствующими человеческими каркасными областями. В некоторых вариантах осуществления выбирают человеческую каркасную область, которая обладает высшим уровнем гомологии с заменяемой нечеловеческой каркасной областью. В некоторых вариантах осуществления такое гуманизированное антитело является CDR-привитым антителом.

В некоторых вариантах осуществления после CDR-графтинга одна или более каркасных аминокислот заменяют обратно на соответствующую аминокислоту в мышинной каркасной области. Такие "обратные мутации" в некоторых вариантах осуществления проводят с целью сохранить одну или более каркасных аминокислот мыши, которые могут вносить вклад в структуру одного или более CDR, и/или которые могут участвовать в контактах с антигеном и/или могут вносить вклад в общую структурную целостность антитела. В некоторых вариантах осуществления десять или меньше, девять или меньше, во-

семь или меньше, семь или меньше, шесть или меньше, пять или меньше, четыре или меньше, три или меньше, две или меньше, одна или ноль обратных мутаций введены в каркасные области антитела после CDR-графтинга.

В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело также включает человеческую константную область тяжелой цепи и/или человеческую константную область легкой цепи.

Примеры химерных антител

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R является химерным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает по меньшей мере одну нечеловеческую переменную область и по меньшей мере одну человеческую константную область. В некоторых таких вариантах осуществления все переменные области антитела против CSF1R являются нечеловеческими переменными областями, а все константные области антитела против CSF1R являются человеческими константными областями. В некоторых вариантах осуществления одна или более переменных областей химерного антитела являются мышиными переменными областями.

Человеческая константная область химерного антитела не должна быть того же изотипа, что и нечеловеческая константная область, если таковые вообще присутствуют, которую она заменяет. Химерные антитела обсуждаются, например, в патенте США 4,816,567; и Morrison et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-55 (1984).

Неограничивающие примеры химерных антител включают химерные антитела, включающие переменные области тяжелой и/или легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311. Дополнительные неограничивающие примеры химерных антител включают химерные антитела, включающие CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311.

Неограничивающие примеры химерных антител против CSF1R включают антитела, включающие следующие пары переменных областей тяжелой и легкой цепи: SEQ ID NO: 9 и 10; SEQ ID NO: 11 и 12; и SEQ ID NO: 13 и 14.

Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, включающие набор CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, показанный выше в табл. 1.

Другие примеры химерных антител

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, где антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R включает легкую цепь, включающую последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, включающую последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; где антитело связывает CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R включает по меньшей мере один из CDR, обсуждаемых в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R включает по меньшей мере один CDR, выбранный из CDR1 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR2 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR3 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR1 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR2 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, и CDR3 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R включает по меньшей мере один мутантный CDR на основе CDR, обсуждаемого в настоящей заявке, где мутантный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены по сравнению с CDR, обсуждаемым в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в данной области техники может выбрать одну или более подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где подходящие консервативные аминокислотные замены не предполагают значимого изменения связывающих свойств антитела, включающего мутантный CDR.

Примеры химерных антител против CSF1R также включают химерные антитела, которые конкурируют за связывание с CSF1R с антителом, описанным в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предложено химерное антитело против CSF1R, которое конкурирует за связывание с CSF1R с антителом, выбранным из Fabs 0301, 0302 и 0311; и вариантами бивалентных (то есть имеющих две тяжелых цепи и две легких цепи) антител на основе указанных Fabs.

Примеры константных областей химерных антител В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящей заявке, включает одну или более человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область тяжелой цепи имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область легкой цепи имеет изотип, выбранный из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящей заявке, включает мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область IgG4 человека и человеческую κ легкую цепь.

Как отмечено выше, является ли желательной эффекторная функция, может зависеть от конкретного способа лечения, предполагаемого для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, когда необходима эффекторная функция, выбирают химерное антитело против CSF1R, включающее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция не требуется, выбирают химерное антитело против CSF1R, включающее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Примеры человеческих антител

Человеческие антитела могут быть получены любым подходящим способом. Неограничивающие примеры способов включают получение человеческих антител в трансгенных мышах, которые включают локусы иммуноглобулина человека. См., например, Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551-55 (1993); Jakobovits et al., Nature 362: 255-8 (1993); Lonberg et al., Nature 368: 856-9 (1994); а также патенты США 5,545,807; 6,713,610; 6,673,986; 6,162,963; 5,545,807; 6,300,129; 6,255,458; 5,877,397; 5,874,299; и 5,545,806.

Неограничивающие примеры способов также включают получение человеческих антител при использовании библиотек фагового дисплея. См., например, Hoogenboom et al., J. Mol. Biol. 227: 381-8 (1992); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-97 (1991); и публикацию PCT WO 99/10494.

В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело против CSF1R связывается с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 1. Примеры человеческих антител против CSF1R также включают антитела, которые конкурируют за связывание с CSF1R с антителом, описанным в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предложено человеческое антитело против CSF1R, которое конкурирует за связывание с CSF1R с антителом, выбранным из Fabs 0301, 0302 и 0311, и вариант бивалентного (то есть имеющего две тяжелых цепи и две легких цепи) антитела на основе указанных Fabs.

В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело против CSF1R включает одну или более человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область тяжелой цепи имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область легкой цепи имеет изотип, выбранный из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в настоящей заявке, включает мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область IgG4 человека и человеческую κ легкую цепь.

В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают человеческое антитело против CSF1R, включающее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция не требуется, выбирают человеческое антитело против CSF1R, включающее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Дополнительные примеры антител против CSF1R Примеры антител против CSF1R также включают, без ограничения, мышинные, гуманизированные, человеческие, химерные и сконструированные антитела, которые включают, например, одну или более последовательностей CDR, описанных в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает переменную область тяжелой цепи, описанную в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает переменную область легкой цепи, описанную в настоящей заявке. В некоторых вари-

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры антител против CSF1R также включают антитела, включающие переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из гуманизированных антител huAb1 - huAb16. Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, включающие переменную область тяжелой цепи, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры антител против CSF1R также включают антитела, включающие переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из гуманизованных антител huAb1 - huAb16. Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, включающие следующие пары переменных областей тяжелой и легкой цепей: SEQ ID NO: 9 и 10; SEQ ID NO: 11 и 12; и SEQ ID NO: 13 и 14; SEQ ID NO: 39 и 40; SEQ ID NO: 41 и 42; SEQ ID NO: 43 и 44; SEQ ID NO: 45 и 46; SEQ ID NO: 47 и 48; SEQ ID NO: 49 и 50; и SEQ ID NO: 51 и 52. Неограничивающие примеры антител против CSF1R также включают антитела, включающие следующие пары тяжелой и легкой цепей: SEQ ID NO: 33 и 34; SEQ ID NO: 35 и 36; и SEQ ID NO: 37 и 38.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, включающие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, выбранные из: SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, включающие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, показанные выше в табл. 1.

вления антитело против CSF

- 16 -

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает по меньшей мере один из CDR, обсуждаемых в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает по меньшей мере один CDR, выбранный из CDR1 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR2 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR3 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR1 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR2 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, и CDR3 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R включает по меньшей мере один мутантный CDR на основе CDR, обсуждаемого в настоящей заявке, где мутантный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены по сравнению с CDR, обсуждаемым в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в данной области техники может выбрать одну или более подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где подходящие консервативные аминокислотные замены не предполагают значимого изменения связывающих свойств антитела, включающего мутантный CDR.

Примеры антител против CSF1R также включают антитела, которые конкурируют за связывание с CSF1R с антителом, описанным в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предложено антитело против CSF1R, которое конкурирует за связывание с CSF1R с антителом, выбранным из Fabs 0301, 0302 и 0311, и вариантом бивалентного (то есть имеющего две тяжелых цепи и две легких цепи) антитела на основе указанных Fabs.

Примеры константных областей антитела

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящей заявке, включает одну или более человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область тяжелой цепи имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область легкой цепи имеет изотип, выбранный из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления антитело, описанное в настоящей заявке, включает мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящей заявке, включает константную область IgG4 человека и человеческую κ легкую цепь.

Как отмечено выше, является ли желательной эффекторная функция, может зависеть от конкретного способа лечения, предполагаемого для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают антитело против CSF1R, включающее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция не требуется, выбирают антитело против CSF1R, включающее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Примеры переменных областей тяжелой цепи антител к CSF1R

В некоторых вариантах осуществления предложены переменные области тяжелой цепи антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R является мышиной переменной областью, человеческой переменной областью или гуманизированной переменной областью.

Переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R включает CDR1, FR2, CDR2, FR3 и CDR3 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R дополнительно включает FR1 и/или FR4 тяжелой цепи. Неограничивающие примеры переменных областей тяжелой цепи включают, без ограничения, переменные области тяжелой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R включает CDR1, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 15, 21 и 27.

В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R включает CDR2, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 16, 22 и 28.

В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи антитела против CSF1R включает CDR3, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17, 23 и 29.

Неограничивающие примеры переменных областей тяжелой цепи включают, без ограничения, переменные области тяжелой цепи, включающие наборы CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и SEQ ID NO: 27, 28 и 29.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R включает последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, где тяжелая цепь вместе с легкой цепью способна образовывать антитело, которое связывает CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R включает по меньшей

мере один из CDR, обсуждаемых в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R включает по меньшей мере один CDR, выбранный из CDR1 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR2 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, и CDR3 тяжелой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R включает по меньшей мере один мутантный CDR на основе CDR, обсуждаемого в настоящей заявке, где мутантный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены по сравнению с CDR, обсуждаемым в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в данной области техники может выбрать одну или более подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где подходящие консервативные аминокислотные замены не предполагают значимого изменения связывающих свойств тяжелой цепи, включающей мутантный CDR.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает константную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает человеческую константную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область тяжелой цепи имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человеческая тяжелая цепь константная область является константной областью IgG. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления константная область тяжелой цепи IgG4 человека включает мутацию S241P.

В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, тяжелая цепь включает константную область тяжелой цепи IgG1 или IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция менее желательна, тяжелая цепь включает константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Примеры вариабельных областей легкой цепи антител к CSF1R

В некоторых вариантах осуществления предложены вариабельные области легкой цепи антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R является мышшиной вариабельной областью, человеческой вариабельной областью или гуманизированной вариабельной областью.

Вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R включает CDR1, FR2, CDR2, FR3 и CDR3 легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R дополнительно включает FR1 и/или FR4 легкой цепи. Неограничивающие примеры вариабельных областей легкой цепи включают вариабельные области легкой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R включает CDR1, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18, 24 и 30.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R включает CDR2, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 25 и 31.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R включает CDR3, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 26 и 32.

Неограничивающие примеры вариабельных областей легкой цепи включают, без ограничения, вариабельные области легкой цепи, включающие наборы CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R включает последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где легкая цепь вместе с тяжелой цепью способна образовывать антитело, которое связывает CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R включает по меньшей мере один из CDR, обсуждаемых в настоящей заявке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R включает по меньшей мере один CDR, выбранный из CDR1 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, CDR2 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке, и CDR3 легкой цепи, обсуждаемого в настоящей заявке. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R включает по меньшей мере один мутантный CDR на основе CDR, обсуждаемого в настоящей заявке, где мутантный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замены по сравнению с CDR, обсуждаемым в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в данной области техники может выбрать одну или более подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где подходящие консервативные аминокислотные замены не предполагают значимого изменения связывающих свойств легкой цепи, включающей мутантный CDR.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает человеческую константную область

легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления человеческая константная область легкой цепи выбрана из константной области человеческой κ и человеческой λ легкой цепи.

Примеры дополнительных CSF1R-связывающих молекул

В некоторых вариантах осуществления предложены дополнительные молекулы, которые связывают CSF1R. Такие молекулы включают, без ограничения, неканонические каркасы, такие как антикалины, аднектины, анкириновые повторы и т.д. См., например, Hosse et al., Prot. Sci. 15:14 (2006); Fiedler, M. and Skerra, A., "Non-Antibody Scaffolds", pp.467-499, в Handbook of Therapeutic Antibodies, Dubel, S., ed., Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2007.

Примеры свойств антител против CSF1R

В некоторых вариантах осуществления антитело, имеющее описанную выше структуру, связывается с CSF1R с аффинностью связывания (K_D) меньше 1 нМ, блокирует связывание CSF1 и/или IL-34 с CSF1R и ингибирует фосфорилирование CSF1R, вызываемое CSF1 и/или IL-34.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R связывается с внеклеточным доменом CSF1R (CSF1R-ECD). В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R обладает аффинностью связывания (K_D) в отношении CSF1R меньше 1 нМ, меньше 0,5 нМ, меньше 0,1 нМ или меньше 0,05 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R обладает K_D 0,01-1 нМ, 0,01-0,5 нМ, 0,01-0,1 нМ, 0,01-0,05 нМ или 0,02-0,05 нМ.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание лиганда с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание CSF1 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание IL-34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание и CSF1, и IL-34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое блокирует связывание лиганда, связывается с внеклеточным доменом CSF1R. Антитело, как предполагают, "блокирует связывание лиганда с CSF1R", когда оно уменьшает количество обнаруживаемого связывания лиганда с CSF1R по меньшей мере на 50% при использовании анализа, описанного в примере 7. В некоторых вариантах осуществления антитело уменьшает количество обнаруживаемого связывания лиганда с CSF1R по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90% при использовании анализа, описанного в примере 7. В некоторых таких вариантах осуществления антитело, как считают, блокирует связывание лиганда по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует лиганд-индуцированное фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует CSF1-индуцированное фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует IL-34-индуцированное фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует и CSF1-индуцированное, и IL-34-индуцированное фосфорилирование CSF1R. Антитело, как предполагают, "ингибирует лигандиндуцированное фосфорилирование CSF1R", когда оно уменьшает количество обнаруживаемого лигандиндуцированного фосфорилирования CSF1R по меньшей мере на 50% при использовании анализа, описанного в примере 6. В некоторых вариантах осуществления антитело уменьшает количество обнаруживаемого лигандиндуцированного фосфорилирования CSF1R по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90% при использовании анализа, описанного в примере 6. В некоторых таких вариантах осуществления антитело, как считают, ингибирует лиганд-индуцированное фосфорилирование CSF1R по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует реакции пролиферации и/или выживаемости моноцитов в присутствии CSF1 и/или IL-34. Антитело, как полагают, "ингибирует реакции пролиферации и/или выживаемости моноцитов", если оно уменьшает количество реакций пролиферации и/или выживаемости моноцита в присутствии CSF1 и/или IL-34 по меньшей мере на 50% при использовании анализа, описанного в примере 10. В некоторых вариантах осуществления антитело уменьшает количество реакций пролиферации и/или выживаемости моноцитов в присутствии CSF1 и/или IL-34 по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90% при использовании анализа, описанного в примере 10. В некоторых таких вариантах осуществления антитело, как считают, ингибирует реакции пролиферации и/или выживаемости моноцитов по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

Примеры конъюгатов антитела

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R конъюгировано с меткой и/или цитотоксическим средством. При использовании в настоящем описании метка является молекулой, которая облегчает обнаружение антитела и/или облегчает обнаружение молекулы, с которой связывается антитело. Неограничивающие примеры меткок включают, без ограничения, радиоизотопы, флуоресцентные группы, ферментные группы, хемилюминесцентные группы, биотин, эпитоп-метки, металлсвязывающие метки и т.д. Специалист в данной области техники может выбрать подходящую метку согласно предполагаемому применению.

При использовании в настоящем описании цитотоксическое средство является молекулой, которая

уменьшает пролиферативную способность одной или более клеток. Клетка обладает уменьшенной пролиферативной способностью, когда уменьшается способность клетки к пролиферации, например, поскольку клетка подвергается апоптозу или гибнет иным путем, клетка не способна проходить клеточный цикл и/или не может делиться, клетка дифференцируется и т.д. Неограничивающие примеры цитотоксических средств включают, без ограничения, радиоизотопы, токсины и химиотерапевтические средства. Специалист в данной области техники может выбрать подходящее цитотоксическое средство согласно предполагаемому применению.

В некоторых вариантах осуществления метку и/или цитотоксическое средство конъюгируют с антителом при использовании химических методов *in vitro*. Неограничивающие примеры химических методов конъюгирования известны в уровне техники и включают услуги, методы и/или реактивы, предоставляемые на коммерческой основе, например, Thermo Scientific Life Science Research Products (панее Pierce; Rockford, IL), Prozyme (Hayward, CA), SACRI Antibody Services (Calgary, Canada), AbD Serotec (Raleigh, NC) и т.д. В некоторых вариантах осуществления, когда метка и/или цитотоксическое средство являются полипептидом, метка и/или цитотоксическое средство могут экспрессироваться с одного вектора экспрессии по меньшей мере с одной цепью антитела, с получением полипептида, включающего метку и/или цитотоксическое средство, которые слиты с цепью антитела. Специалист в данной области техники может подобрать подходящий способ конъюгирования метки и/или цитотоксического средства с антителом согласно предполагаемому применению.

Примеры лидерных последовательностей

В случае, если некоторые секретируемые белки требуется экспрессировать и секретировать в больших количествах, может быть необходимой лидерная последовательность из гетерологичного белка. В некоторых вариантах осуществления лидерная последовательность выбрана из SEQ ID NO: 3 и 4, которые являются лидерными последовательностями легкой цепи и тяжелой цепи, соответственно. В некоторых вариантах осуществления применение гетерологичных лидерных последовательностей может быть удобно тем, что получаемый зрелый полипептид может оставаться неизменным, поскольку лидерная последовательность удаляется в ЭР в ходе процесса секреции. Добавление гетерологичной лидерной последовательности может требоваться при экспрессии и секреции некоторых белков.

Некоторые примеры последовательностей лидерной последовательности описаны, например, в онлайн Базе данных лидерных последовательностей, поддерживаемой департаментом биохимии Национального университета Сингапура. См. Choo et al., BMC Bioinformatics, 6: 249 (2005); и публикацию PCT WO 2006/081430.

Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие антитела против CSF1R

Предложены молекулы нуклеиновых кислот, включающие полинуклеотиды, которые кодируют одну или более цепей антител против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты включает полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь или легкую цепь антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты включает полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, и полинуклеотид, который кодирует легкую цепь антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления первая молекула нуклеиновой кислоты включает первый полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, и вторая молекула нуклеиновой кислоты включает второй полинуклеотид, который кодирует легкую цепь.

В некоторых таких вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются с одной молекулы нуклеиновой кислоты или с двух отдельных молекул нуклеиновой кислоты, как два отдельных полипептида. В некоторых вариантах осуществления, например, когда антитело представляет собой scFv, один полинуклеотид кодирует один полипептид, включающий соединенные тяжелую цепь и легкую цепь.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела против CSF1R, включает нуклеотидную последовательность, которая кодирует лидерную последовательность, которая после трансляции расположена на N-конце тяжелой цепи или легкой цепи. Как обсуждается выше, лидерная последовательность может быть нативной лидерной последовательностью тяжелой или легкой цепи или может быть другой гетерологичной лидерной последовательностью.

Молекулы нуклеиновой кислоты могут быть сконструированы при использовании технологий рекомбинантной ДНК, стандартных в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты является вектором экспрессии, который является подходящим для экспрессии в выбранной клетке-хозяине.

Экспрессия и продукция антител против CSF1R

Векторы

Предложены векторы, включающие полинуклеотиды, которые кодируют тяжелые цепи против CSF1R и/или легкие цепи против CSF1R. Также предложены векторы, включающие полинуклеотиды, которые кодируют тяжелые цепи против CSF1R и/или легкие цепи против CSF1R. Такие векторы включают, без ограничения, ДНК-векторы, фаговые векторы, вирусные векторы, ретровирусные векторы и т.д. В некоторых вариантах осуществления вектор включает первую полинуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, и вторую полинуклеотидную последовательность, кодирующую лег-

кую цепь. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются с вектора как два отдельных полипептида. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются как часть одного полипептида, такого как, например, в случае, когда антитело представляет собой scFv.

В некоторых вариантах осуществления первый вектор включает полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, и второй вектор включает полинуклеотид, который кодирует легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления первый вектор и второй вектор трансфицируют в клетки-хозяева в аналогичных количествах (например, аналогичных молярных количествах или аналогичных массовых количествах). В некоторых вариантах осуществления молярное или массовое отношение от 5:1 до 1:5 первого вектора и второго вектора трансфицируют в клетки-хозяева. В некоторых вариантах осуществления используют массовое отношение от 1:1 до 1:5 для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления используется массовое отношение 1:2 для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь.

В некоторых вариантах осуществления выбирают вектор, который оптимизирован для экспрессии полипептидов в клетках CHO или CHO-производных клетках, или в клетках NSO. Примеры таких векторов описаны, например, в Running Deer et al., *Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004).

В некоторых вариантах осуществления вектор выбран для *in vivo* экспрессии тяжелых цепей против CSF1R и/или легких цепей против CSF1R в животных, включая людей. В некоторых таких вариантах осуществления экспрессия полипептида находится под контролем промотора, который функционирует тканеспецифическим образом. Например, печень-специфические промоторы описаны, например, в публикации PCT WO 2006/076288.

Клетки-хозяева

В различных вариантах осуществления тяжелые цепи против CSF1R и/или легкие цепи против CSF1R могут экспрессироваться в прокариотических клетках, таких как бактериальные клетки; или в эукариотических клетках, таких как клетки грибов (таких как дрожжи), растительные клетки, клетки насекомых и клетки млекопитающих. Такая экспрессия может быть выполнена, например, согласно методам, известным в уровне техники. Примеры эукариотических клеток, которые могут применяться для экспрессии полипептидов, включают, без ограничения, клетки COS, включая клетки COS 7; клетки 293, включая клетки 293-6E; клетки CHO, включая CHO-S и клетки DG44; клетки PER.C6® (Crucell); и клетки NSO. В некоторых вариантах осуществления тяжелые цепи против CSF1R и/или легкие цепи против CSF1R могут экспрессироваться в дрожжах. См., например, патентную публикацию США US 2006/0270045 A1. В некоторых вариантах осуществления конкретная эукариотическая клетка-хозяин выбрана по ее способности вводить требуемые посттрансляционные модификации в тяжелые цепи против CSF1R и/или легкие цепи против CSF1R. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки CHO продуцируют полипептиды, которые имеют более высокий уровень сialiрирования, чем такой же полипептид, полученный в клетках 293.

Введение одной или более нуклеиновых кислот в требуемую клетку-хозяина может быть выполнено любым способом, включающим, без ограничения, трансфекцию с фосфатом кальция, DEAE-декстран-опосредованную трансфекцию, опосредованную катионными липидами трансфекцию, электропорацию, трансдукцию, инфицирование и т.д. Неограничивающие примеры способов описаны, например, в Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Нуклеиновые кислоты могут быть транзистентно или стабильно трансфицированы в требуемые клетки-хозяева согласно любому подходящему способу.

В некоторых вариантах осуществления один или более полипептидов могут быть получены *in vivo* в животном, которое было сконструировано или трансфицировано одной или более молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими полипептиды, согласно любому подходящему способу.

Очистка антител против CSF1R

Антитела против CSF1R могут быть очищены любым подходящим способом. Такие способы включают, без ограничения, применение аффинных матриц или хроматографии гидрофобных взаимодействий. Подходящие аффинные лиганды включают ECD CSF1R и лиганды, которые связывают константные области антитела.

Например, белок A, белок G, белок A/G или колонка для аффинной очистки антител могут использоваться для связывания константной области и очистки антитела против CSF1R. Хроматография гидрофобных взаимодействий, например, на бутил или фенил колонке, также может подходить для очистки некоторых полипептидов. Множество способов очистки полипептидов известны в уровне техники.

Бесклеточная продукция антител против CSF1R

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R получают в бесклеточной системе. Неограничивающие примеры бесклеточных систем описаны, например, в Sitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009); Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004); Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003).

Терапевтические композиции и способы

Способы лечения заболеваний с применением антител против CSF1R

В настоящей заявке предложены способы лечения CD16+ нарушений антителом, которое связывает CSF1R и блокирует связывание лигандов CSF1 и IL-34. В настоящей заявке предложены способы лечения ревматоидного артрита антителом, которое связывает CSF1R и блокирует связывание лигандов CSF1 и IL-34.

В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения ревматоидного артрита, где способ включает введение антитела, которое связывает CSF1R и блокирует связывание лигандов CSF1 и IL-34, такое как антитело, выбранное из huAb1 - huAb16, субъекту с ревматоидным артритом. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения ревматоидного артрита, где способ включает введение антитела huAb1 субъекту с ревматоидным артритом. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение по меньшей мере одной дозы антитела, где доза составляет от 0,2 мг/кг до 10 мг/кг, например, от 1 мг/кг до 10 мг/кг или от 3 мг/кг до 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело выводится из сыворотки после введения однократной дозы 1 мг/кг приблизительно через 2 недели, после введения однократной дозы 3 мг/кг приблизительно через 6 недель и после введения однократной дозы 10 мг/кг приблизительно через 12 недель. Выведение из сыворотки у людей, которым была введена однократная дозу huAb1, было значительно и неожиданно более медленным, чем выведение из сыворотки у яванских макаков, которые получили такую же дозу. Низкая скорость выведения, в некоторых вариантах осуществления, позволяет производить нечастое введение дозы антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело можно вводить один раз в две недели или реже. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело можно вводить один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в месяц, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в два месяца, один раз в три месяца или четыре раза в год.

В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения человеку составляет более 2 дней. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения человеку составляет более 4 дней. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения человеку составляет более 15 дней. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения дозы приблизительно 1,0 мг/кг человеку составляет более 2 дней. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения дозы приблизительно 3,0 мг/кг человеку составляет более 4 дней. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения дозы приблизительно 10 мг/кг человеку составляет более 15 дней. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения дозы приблизительно 10 мг/кг человеку составляет более 18 дней. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения дозы от 1 мг/кг до 10 мг/кг человеку составляет от 2 до 25 дней. В некоторых вариантах осуществления полупериод существования huAb1 после введения дозы от 3 мг/кг до 10 мг/кг человеку составляет от 4 до 25 дней.

В некоторых вариантах осуществления предложен способ снижения количества CD16+ моноцитов, где способ включает введение антитела, которое связывает CSF1R и блокирует связывание лигандов CSF1 и IL-34, такое как антитело, выбранное из huAb1 - huAb16, субъекту с повышенными CD16+ моноцитами. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет ревматоидный артрит. В некоторых вариантах осуществления введение антитела, которое связывает CSF1R и блокирует связывание лигандов CSF1 и IL-34, не снижает количество CD16- моноцитов. В некоторых вариантах осуществления количество CD16+ моноцитов уменьшается в большей степени, чем количество CD16- моноцитов, при введении субъекту антитела, которое связывает CSF1R и блокирует связывание лигандов CSF1 и IL-34. В некоторых вариантах осуществления количество CD16+ моноцитов уменьшается по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90% после введения по меньшей мере одной дозы антитела, такого как huAb1. В некоторых вариантах осуществления количество CD16- моноцитов уменьшается меньше чем на 30%, меньше чем на 20% или меньше чем на 10%. В некоторых вариантах осуществления уменьшение количества CD16+ моноцитов продолжается в течение по меньшей мере одной недели, по меньшей мере двух недель, по меньшей мере трех недель, по меньшей мере четырех недель, по меньшей мере пяти недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере семи недель или по меньшей мере восьми недель после введения дозы антитела. В некоторых вариантах осуществления CD16+ моноциты являются CD16+ моноцитами периферической крови. В некоторых вариантах осуществления CD16-моноциты являются CD16- моноцитами периферической крови.

В некоторых вариантах осуществления предложен способ уменьшения резорбции костной ткани, связанной с ревматоидным артритом, где способ включает введение антитела, которое связывает CSF1R и блокирует связывание лигандов CSF1 и IL-34, такого как антитело, выбранное из huAb1 - huAb16, субъекту с ревматоидным артритом. В некоторых вариантах осуществления предложен способ уменьшения резорбции костной ткани, связанной с ревматоидным артритом, где способ включает введение антитела huAb1 субъекту с ревматоидным артритом. Уменьшение резорбции костной ткани в некоторых вариантах осуществления включает уменьшение количества остеокластов в суставах, пораженных ревма-

тоидным артритом.

В некоторых вариантах осуществления резорбция костной ткани может быть измерена путем определения уровня CTx и/или TRAP5b в плазме субъекта, где повышенный уровень CTx и/или TRAP5b указывает на повышенную резорбцию костной ткани у субъекта. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления пониженный уровень CTx и/или TRAP5b указывает на уменьшение резорбции костной ткани. Уровни CTx и/или TRAP5b можно определить, в некоторых случаях, до и после применения антитела, которое связывает CSF1R, и/или можно периодически определять в течение всего курса лечения для контроля эффективности лечения в отношении уменьшения потери костной массы. Уровни CTx и/или TRAP5b можно определить при использовании любого метода из уровня техники, в том числе, без ограничения, ELISA (включая FAICEA или иммуноферментный анализ с захватом абсорбированными фрагментами; см., например, анализ TRAP5b Quidel®, TECOmedical Group, Sissach, Switzerland). В некоторых вариантах осуществления введение антитела, которое связывает CSF1R и блокирует связывание лигандов CSF1 и IL-34, такого как huAbl, снижает по меньшей мере один маркер резорбции костной ткани, такой как, например, CTx и/или TRAP5b. В некоторых вариантах осуществления уровень в сыворотке маркера резорбции костной ткани снижается по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 75%. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня маркера резорбции костной ткани в сыворотке продолжается в течение по меньшей мере одной недели, по меньшей мере двух недель, по меньшей мере трех недель, по меньшей мере четырех недель, по меньшей мере пяти недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере семи недель или по меньшей мере восьми недель после введения дозы антитела.

Пути введения и носители

В различных вариантах осуществления антитела против CSF1R могут быть введены *in vivo* различными путями, включая, без ограничения, пероральный, внутриартериальный, перентеральный, интраназальный, внутримышечный, внутрисердечный, внутрижелудочковый, внутритрахеальный, буккальный, ректальный, внутрибрюшинный, внутрикожный, наружный, трансдермальный и интратекальный, или другим способом, посредством имплантации или ингаляции.

Рассматриваемые композиции могут быть изготовлены в виде препаратов в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах; включая, без ограничения, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, ирригационные растворы, растворы для инъекций, препараты для ингаляции и аэрозоли. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело против CSF1R, может быть нанесена на микрочастицы золота и введена внутрикожно с помощью устройства для бомбардировки частицами или "генной пушки", как описано в литературе (см., например, Tang et al., *Nature* 356:152-154 (1992)). Подходящая лекарственная форма и путь введения могут быть выбраны согласно предполагаемому применению.

В различных вариантах осуществления композиции, включающие антитела против CSF1R, представлены в лекарственных формах с целым рядом фармацевтически приемлемых носителей (см., например, Gennaro, Remington: *The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20th ed. (2003); Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)). Доступны различные фармацевтически приемлемые носители, которые включают наполнители, вспомогательные вещества и разбавители. Кроме того, также доступны различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, такие как регуляторы pH и буферные вещества, регуляторы тоничности, стабилизаторы, смачивающие вещества и т.п. Неограничивающие примеры носителей включают раствор хлорида натрия, забуференный раствор хлорида натрия, декстрозу, воду, глицерин, этанол и их комбинации.

В различных вариантах осуществления композиции, включающие антитела против CSF1R, могут быть изготовлены в форме для инъекций, включая подкожное введение, при их растворении, суспендировании или эмульгировании в водном или неводном растворителе, таком как растительные или другие масла, синтетические глицериды алифатических кислот, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоль; и, в случае необходимости, с обычными добавками, такими как солюбилизаторы, изотонические вещества, суспендирующие вещества, эмульгирующие вещества, стабилизаторы и консерванты. В различных вариантах осуществления композиции могут быть изготовлены в форме для ингаляции, например, при использовании приемлемых пропеллентов под давлением, таких как дихлордифторметан, пропан, азот и т.п. Композиции могут быть также изготовлены в форме, в различных вариантах осуществления, микрокапсул с пролонгированным высвобождением, таких как с биоразлагаемыми или небiorазлагаемыми полимерами. Неограничивающий пример биоразлагаемой формы включает сополимер гликолевой кислоты и молочной кислоты. Неограничивающий пример небiorазлагаемой формы включает полиглицериновый сложный эфир жирной кислоты. Некоторые способы получения таких лекарственных форм описаны, например, в EP 1 125 584 A1.

Также предложены фармацевтические упаковки и наборы, включающие один или более контейнеров, каждый из которых содержит одну или более доз антитела против CSF1R. В некоторых вариантах

осуществления предложена единичная доза, где единичная доза содержит заданное количество композиции, включающей антитело против CSF1R, с или без одного или более дополнительных средств. В некоторых вариантах осуществления такая единичная доза поставляется в предварительно наполненном шприце одноразового применения для инъекции. В различных вариантах осуществления композиция, содержащаяся в единичной дозе, может включать раствор хлорида натрия, сахарозу или подобное; буфер, такой как фосфат, или подобное; и/или она может быть изготовлена в пределах стабильного и эффективного диапазона pH. В альтернативе, в некоторых вариантах осуществления, композиция может быть предоставлена в виде лиофилизированного порошка, который может быть восстановлен при добавлении подходящей жидкости, например, стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления композиция включает одно или более веществ, которые ингибируют агрегацию белка, включая, без ограничения, сахарозу и аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция изобретения включает гепарин и/или протеогликан.

Фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения или профилактики при определенном показании. Терапевтически эффективное количество обычно зависит от веса проходящего лечение субъекта, его или ее физического состояния или состояния здоровья, распространения состояния, подвергаемого лечению, или возраста проходящего лечение субъекта. В целом, антитела против CSF1R можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 10 мкг/кг массы тела до приблизительно 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против CSF1R можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 50 мкг/кг массы тела до приблизительно 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против CSF1R можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 100 мкг/кг массы тела до приблизительно 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против CSF1R можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 100 мкг/кг массы тела до приблизительно 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела против CSF1R можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 0,5 мг/кг массы тела до приблизительно 20 мг/кг массы тела на дозу.

Композиции антитела против CSF1R можно вводить согласно потребности субъектов. Определение частоты введения может быть выполнено специалистами в данной области техники, такими как лечащий врач, в зависимости от оценки подвергаемого лечению состояния, возраста проходящего лечение субъекта, тяжести подвергаемого лечению состояния, общего состояния здоровья проходящего лечение субъекта и т.п. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела против CSF1R вводят субъекту один или более раз. В различных вариантах осуществления эффективную дозу антитела против CSF1R вводят субъекту один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в месяц, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в два месяца, один раз в три месяца, четыре раза в год или реже. Эффективную дозу антитела против CSF1R вводят субъекту по меньшей мере один раз. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела против CSF1R можно вводить многократно, в том числе в течение периодов продолжительностью по меньшей мере месяц, по меньшей мере шесть месяцев или по меньшей мере год.

Комбинированная терапия

Антитела против CSF1R можно вводить отдельно или в сочетании с другими способами лечения. Их можно предоставлять до, по существу одновременно или после применения других способов лечения, например, хирургии, химиотерапии, лучевой терапии или введения биопрепаратов, таких как другое терапевтическое антитело. Для лечения ревматоидного артрита, антитела против CSF1R можно применять с другими терапевтическими средствами, например, метотрексатом, антителами к ФНО, такими как Ремикейд (инфликсимаб), Хумира (адалимумаб), Симпони (голимумаб) и Энбрел (этанерцепт); глюкокортикоидами, такими как преднизон; лефлуномидом; азатиоприном; ингибиторам JAK, такими как CP 590690; ингибиторами SYK, такими как R788; антителами против IL-6; антителами против IL-6R, такими как тоцилизумаб; антителами против CD-20, такими как ритуксимаб; антителами против CD19; антителами против ГМ-КСФ; антителами против ГМ-КСФ-Р; антагонистами рецептора IL-1, такими как анакинара; антагонистами CTLA-4, такими как абатацепт; иммунодепрессантами, такими как циклоспорин.

Примеры

Примеры, обсуждаемые ниже, рассматриваются исключительно как примеры изобретения и не должны считаться каким-либо ограничением изобретения. Не следует считать, что примеры представляют, что эксперименты ниже являются всеми или единственными выполненными экспериментами. Были предприняты усилия, позволяющие гарантировать точность в отношении используемых числовых значений (например, количеств, температуры и т.д.), однако следует учитывать присутствие некоторых экспериментальных погрешностей и отклонений. Если не указано иное, части являются частями по весу, молекулярная масса является средневесовой молекулярной массой, температура указана в градусах Цельсия, и давление является атмосферным или близким к атмосферному.

Пример 1. Гуманизированные антитела против CSF1R.

Различные гуманизированные антитела против CSF1R были разработаны ранее. См., например, публикацию PCT WO 2011/140249.

Последовательности каждой из гуманизированных переменных областей тяжелой цепи и гумани-

зированных переменных областей легкой цепи, выровненные относительно последовательностей переменных областей исходного химерного антитела и последовательностей человеческих акцепторных переменных каркасных областей, показаны на фиг. 1 (тяжелые цепи) и 2 (легкие цепи). Изменения в последовательностях гуманизированных переменных областей относительно последовательностей человеческих акцепторных переменных каркасных областей выделены рамкой. Каждый из CDR каждой из переменных областей показан в рамке и отмечен как "CDR" над последовательностями в рамке.

В табл. 6, ниже, показаны полные последовательности гуманизированных тяжелых цепей и гуманизированных легких цепей антител huAb1 - huAb16. Название и SEQ ID NO гуманизированной тяжелой цепи и гуманизированной легкой цепи каждого из этих антител показаны в табл. 3.

Таблица 3. Гуманизированные тяжелые цепи и легкие цепи антител huAb1-huAb16

Гуманизированное антитело	Гуманизированная HC	SEQ ID NO	Гуманизированная LC	SEQ ID NO
huAb1	h0301-H0	53	h0301-L0	60
huAb2	h0301-H1	54	h0301-L0	60
huAb3	h0301-H2	55	h0301-L0	60
huAb4	h0301-H0	53	h0301-L1	61
huAb5	h0301-H1	54	h0301-L1	61
huAb6	h0301-H2	55	h0301-L1	61
huAb7	h0302-H1	56	h0302-L0	62
huAb8	h0302-H1	56	h0302-L1	63
huAb9	h0302-H1	56	h0302-L2	64
huAb10	h0302-H2	57	h0302-L0	62
huAb11	h0302-H2	57	h0302-L1	63
huAb12	h0302-H2	57	h0302-L2	64
huAb13	h0311-H1	58	h0311-L0	65
huAb14	h0311-H1	58	h0311-L1	66
huAb15	h0311-H2	59	h0311-L0	65
huAb16	h0311-H2	59	h0311-L1	66

16 гуманизированных антител тестировали на связывание с ECD CSF1R человека, яванского макака и мыши, как описано ранее. См., например, публикацию PCT WO 2011/140249. Было обнаружено, что антитела связывались с ECD CSF1R человека и яванского макака, но не связывались с мышиным ECD CSF1R. Также было установлено, что гуманизированные антитела блокировали связывание CSF1 и IL-34 и с человеческим, и с мышиным CSF1R, и ингибировали CSF1-индуцированное и IL-34-индуцированное фосфорилирование человеческого CSF1R, экспрессируемого в клетках CHO. См., например, публикацию PCT WO 2011/140249.

Значения k_a , k_d и K_D для связывания с человеческим ECD CSF1R были определены ранее и показаны в табл. 4. См., например, публикацию PCT WO 2011/140249.

Таблица 4. Аффинность связывания гуманизированных антител с человеческим CSF1R

huAb	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (нМ)
huAb 0301-L0H0	$3,22 \times 10^6$	$1,11 \times 10^{-03}$	0,35
huAb 0301-L0H1	$3,56 \times 10^6$	$1,22 \times 10^{-03}$	0,34
huAb 0301-L0H2	$2,32 \times 10^6$	$6,60 \times 10^{-04}$	0,28
huAb 0301-L1H0	$3,29 \times 10^6$	$1,15 \times 10^{-03}$	0,35
huAb 0301-L1H1	$2,87 \times 10^6$	$9,21 \times 10^{-04}$	0,32
huAb 0301-L1H2	$2,95 \times 10^6$	$7,42 \times 10^{-04}$	0,25
huAb 0302-L0H1	$3,54 \times 10^6$	$3,69 \times 10^{-03}$	1,04
huAb 0302-L1H1	$3,47 \times 10^6$	$4,04 \times 10^{-03}$	1,17
huAb 0302-L2H1	$1,60 \times 10^6$	$9,14 \times 10^{-04}$	0,57
huAb 0302-L0H2	$3,40 \times 10^6$	$1,79 \times 10^{-03}$	0,53
huAb 0302-L1H2	$2,71 \times 10^6$	$1,53 \times 10^{-03}$	0,56
huAb 0302-L2H2	$1,84 \times 10^6$	$8,40 \times 10^{-04}$	0,46
huAb 0311-L0H1	$1,22 \times 10^6$	$5,40 \times 10^{-04}$	0,44
huAb 0311-L1H1	$1,32 \times 10^6$	$6,64 \times 10^{-04}$	0,50
huAb 0311-L0H2	$1,34 \times 10^6$	$4,73 \times 10^{-04}$	0,35
huAb 0311-L1H2	$1,51 \times 10^6$	$6,09 \times 10^{-04}$	0,40

Пример 2. Фармакокинетика HuAb1 у яванских макаков и людей.

Фармакокинетику (ФК) huAb1 исследовали в 3 внутривенных (в/в) исследованиях на яванских макаках. Исследуемый диапазон дозы составлял 3-150 мг/кг после однократного введения и 3-150 мг/кг после повторного введения. Продолжительность инфузии составляла 30 мин. Интервал между введением доз в исследованиях с повторным введением составлял один раз в неделю, при этом каждое животное получало в общей сложности 4 дозы.

Профиль ФК после одной 30-минутной в/в инфузии huAb1 у яванских макаков отличался быстрым распределением с последующей более медленной конечной фазой, которая заканчивалась ускоренным выведением huAb1 из плазмы, что согласуется с мишень-опосредованным клиренсом.

Быстрое уменьшение может быть частично обусловлено антителами против huAb1 в дополнение к мишень-опосредованному клиренсу. Однако однократное введение дозы аналогичного химерного анти-тела против CSF1R мышам с ТКИД, которые не имеют способности к ADA ответу, показало подобный профиль. Наблюдаемую максимальную концентрацию в плазме (C_{max}) регистрировали в конце инфузии для групп с более низкой дозой и через 0,5-1 ч после конца инфузии для группы дозы 150 мг/кг. Полупериод существования ($t_{1/2}$) до ускоренного конечного снижения изменялся в пределах 1-12 дней. Значения C_{max} и AUC_{∞} росли с увеличением дозы, при этом C_{max} увеличивалась пропорционально дозе при всех тестируемых уровнях дозы. Увеличения AUC_{∞} превышали пропорциональное увеличение дозы от 3 до 10 мг/кг и были пропорциональны дозе от 10 до 150 мг/кг.

HuAb1 или плацебо приготавливали в концентрации 20 мг/мл в буфере с pH 6,3, содержащем 20 mM L-гистидина, 142 mM L-аргинина и 0,01% полисорбата 20. Взрослых здоровых субъектов-добровольцев рандомизировали в каждую группу дозы (8 субъектов в группе; 6 получали лекарственное средство и 2 получали плацебо). Группы дозы включали однократную дозу 0,2 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг и 10 мг/кг huAb1 или плацебо. HuAb1 или плацебо вводили в/в инфузией в течение 30 мин с последующим периодом наблюдения. Субъекты были должны в течение 72 ч после введения их исследуемого лекарственного препарата пройти обследования и гарантировать соблюдение определяемого протоколом руководства в отношении ограничения алкоголя и интенсивной физической нагрузки.

Начало инфузии считали нулевым моментом времени. Пробы крови забирали для определения концентраций huAb1 в сыворотке в следующие моменты времени относительно начала инфузии:

- t=0 часов (ч) (можно забирать до 60 мин перед введением дозы),
- t=25 (25 мин после начала инфузии), t=30 мин (конец инфузии),
- t=35 мин (35 мин после начала инфузии, что эквивалентно 5 мин от конца инфузии),
- t=45 (45 мин после начала инфузии, эквивалентно 15 мин от конца инфузии),
- t=60 (60 мин после начала инфузии, эквивалентно 30 мин от конца инфузии).

После этого забор проб производили относительно начала инфузии в 2 ч, 4 ч, 8 ч, 24 ч, 36 ч, 48 ч и 72 ч, затем в дни исследования 8, 15, 22, 29, 57 и 85.

Среднюю концентрацию huAb1 в сыворотке субъектов определяли с помощью ELISA следующим образом. Образцы разбавляли минимум 1:30 в разбавителе для анализа (PBS, содержащем 1% бычьего гамма-глобулина, 0,3M NaCl и 0,05% Tween20). Человеческим CSF1R-Fc (слитым белком внеклеточного домена человеческого рецептора CSF1 с Fc IgG1 человека) покрывали планшеты для ELISA. HuAb1 из замороженного образца сыворотки связывали на планшетах и детектировали с использованием конъюгированного с пероксидазой хрена мышинового антитела IgG4 против иммуноглобулина человека с применением стандартных методов. Результаты данного анализа показаны на фиг. 3. На фиг. 3А показан логарифмический график huAb1 в сыворотке в зависимости от времени в неделях. На фиг. 3В показан линейный график для тех же данных. Эти данные указывают, что huAb1 выводится у субъектов в группе 10 мг/кг через 13 недель. Нелинейный профиль ФК согласуется с мишень-опосредованным клиренсом. В табл. 5 показан расчетный клиренс (CL) и полупериод существования huAb1 для каждой дозы. Значения представляют собой среднее±стандартное отклонение для 6 субъектов.

Таблица 5. Клиренс (CL) и полупериод существования huAb1 у людей в исследовании

Доза (мг/кг)	CL (мл/ч/кг)	t1/2 (ч)	t1/2 (д)
0,2	1,62±0,21	12,5±1,3	0,5±0,1
1	0,49±0,10	56,8±11,4	2,4±0,5
3	0,18±0,01	129,8±32,7	5,4±1,4
10	0,11±0,02	490,2±59,4*	20,4±2,5*

*полупериод элиминации первого порядка перед ускоренным конечным клиренсом.

Фармакокинетика, наблюдаемая у людей, по существу и неожиданно отличалась от фармакокинетики, наблюдаемой у яванского макака. Как показано на фиг. 4, клиренс huAb1 у человека был намного более медленным, чем клиренс у яванского макака.

Пример 3: huAb1 супрессирует маркеры резорбции костной ткани CTx и TRAP5b.

Было показано, что введение huAb1 вызывает значительное повышение лигандов CSF1R - CSF1 и IL-34. Такое увеличение использовали для распределения заслепленных образцов в вероятные группы huAb1 и вероятные группы плацебо, определяя уровень CSF1 и/или IL-34 в сыворотке субъектов с помо-

щью коммерческих ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN). См. фиг. 9. После распределения образцов по их вероятным группам, CTx сыворотки измеряли для определения, являлось ли huAb1 эффективным для супрессии данного маркера резорбции костной ткани. CTx сыворотки также измеряли при использовании коммерческого ELISA (IDS Serum CrossLaps ELISA). Образцы сыворотки предварительно замораживали.

Результаты этого эксперимента показаны на фиг. 5. На фиг. 5A, на которой показаны субъекты с низким CSF1, и поэтому вероятные группы плацебо, уровни CTx в сыворотке практически не изменялись при трех указанных дозах ($n=2$ на этих фигурах означает, что в каждой группе было по 2 субъекта). На фиг. 5B, на которой показаны субъекты с высоким CSF1, и поэтому вероятные группы huAb1, уровни CTx в сыворотке были супрессированы дозозависимым образом, указывая, что huAb1 может супрессировать резорбцию костной ткани ($n=6$ на этих фигурах означает, что в каждой группе было по 6 субъектов).

Уровни TRAP5b в сыворотке также измеряли для определения, являлось ли huAb1 эффективным при супрессии уровней TRAP5b, также маркера резорбции костной ткани. TRAP5b в сыворотке измеряли при использовании коммерческого ELISA (MicroVue Bone Health Trap5b Assay, REF 8033, Quidel). Образцы сыворотки были заморожены ранее. Результаты этого эксперимента показаны на фиг. 6. На фиг. 6A, на которой показаны субъекты с низким CSF1, и поэтому вероятные группы плацебо, уровни TRAP5b в сыворотке практически не изменялись при трех указанных дозах ($n=2$ на этих фигурах означает, что в каждой группе было по 2 субъекта). На фиг. 6B, на которой показаны субъекты с высоким CSF1, и поэтому вероятные группы huAb1, уровни TRAP5b в сыворотке отклонялись ниже, указывая, что huAb1 может супрессировать этот маркер резорбции костной ткани ($n=6$ на этих фигурах означает, что в каждой группе было по 6 субъектов).

Пример 4. huAb1 супрессирует CD16+ моноциты у людей.

Ранее было продемонстрировано, что huAb1 супрессирует уровни CD16+ моноцитов у яванских макаков, при этом уровни CD16- моноцитов остаются по существу без изменений. Уровни CD16+ моноцитов определяли у каждого из восьми субъектов на уровень дозы (6 субъектов получали huAb1 и 2 субъекта получали плацебо) с помощью проточной цитометрии следующим образом. Цельную кровь собирали в пробирки для забора крови Cyto-Chex® (Streck) и проводили анализ в течение 48 часов после забора. 75 мкл крови окрашивали моноклональными антителами к CD45, к CD14, к CD16 (все антитела производства BD Biosciences) и к HLA-DR (R&D Systems). Сферы для подсчета клеток AccuCheck® (Life Technologies) добавляли для определения абсолютного количества клеток. Образцы вводили в FAC-SCanto™ (BD Biosciences) и анализировали при использовании программы FlowJo (Tree Star Inc.). Моноциты, идентифицированные как CD45+HLA-DR+SSC^{int}CD14+ клетки, делили на 3 субпопуляции моноцитов, идентифицированные как классические (CD14++CD16-), промежуточные (CD14++CD16+) и неклассические (CD14+CD16++), и подсчитывали на мкл крови.

Результаты данного эксперимента показаны на фиг. 7. Существенно пониженные уровни неклассических CD16+ моноцитов наблюдали в различные периоды времени в каждой исследуемой группе. В случае 0,2 мг/кг уровни неклассических CD16+ моноцитов были понижены у шести вероятных субъектов huAb1 в течение меньше одной недели. В случае 1 мг/кг уровни неклассических CD16+ моноцитов были понижены у шести вероятных субъектов huAb1 в течение по меньшей мере одной недели. В случае 3 мг/кг уровни неклассических CD16+ моноцитов были понижены у шести вероятных субъектов huAb1 в течение по меньшей мере четырех недель. Наконец, в случае 10 мг/кг уровни неклассических CD16+ моноцитов были понижены у шести вероятных субъектов huAb1 в течение восьминедельного периода исследования. Эти результаты дают основание предположить, что нечастое введение huAb1 может вызывать длительную супрессию CD16+ моноцитов. Также отмечали подобные снижения промежуточных CD16+ моноцитов (данные не показаны).

Также определяли уровни классических CD16-моноцитов. Как показано на фиг. 8, изменения уровней CD16-моноцитов не отличались у шести вероятных субъектов huAb1 и вероятных субъектов плацебо при всех уровнях доз.

Пример 5. Фармакокинетика huAb1 у здоровых добровольцев и больных РА.

HuAb1 приготавливали в концентрации 20 мг/мл в буфере с pH 6,3, содержащем 20 mM L-гистидина, 142 mM L-аргинина и 0,01% полисорбата 20. Два взрослых здоровых добровольца и три больных РА получали две дозы 3 мг/кг huAb1 с интервалом 14 дней. HuAb1 вводили внутривенной инфузией в течение 30 мин, с последующим периодом наблюдения. Начало инфузии считали нулевым моментом времени.

Концентрацию huAb1 в сыворотке здоровых добровольцев определяли с помощью ELISA, как описано в [0190]. Тот же анализ использовали для измерения концентрации huAb1 в сыворотке больных РА при использовании другого покрытия. Для покрытия для образцов больных РА использовали человеческий CSF1R-Fc белок, внеклеточный домен рецептора CSF1 человека, слитый с Fc IgG1 мыши. Результаты анализа здоровых добровольцев и больных РА показаны на фиг. 10. Незакрашенный кружок и закрашенный треугольник обозначают данные здоровых добровольцев и больных РА, соответственно. Пунктирная линия и сплошная линия соответствуют среднему группы для здоровых добровольцев и больных

РА, соответственно. Данные ниже нижнего предела количественного определения (LLOQ) считали нулем с целью вычисления среднего группы для графического представления. Концентрация huAb1 в сыворотке в группе двукратного введения дозы 3 мг/кг поддавалась измерению до приблизительно 12 недель для здоровых добровольцев и поддавалась измерению до 8 недель, и возможно дольше, для больных РА (с учетом значения, измеренного до указанного момента) после первого введения дозы.

Пример 6. huAb1 снижает CD16+ моноциты у больных РА.

Уровни CD16+ моноцитов определяли у каждого из двух здоровых добровольцев, которые получали две дозы huAb1 3 мг/кг с интервалом 14 дней. Уровни CD16+ моноцитов также определяли у каждого из трех больных РА, которые получали две дозы huAb1 3 мг/кг с интервалом 14 дней. Цельную кровь собирали в пробирки для забора крови Cyto-Chex® и проводили анализ, как описано в примере 4.

Результаты эксперимента показаны на фиг. 11 и 12. У здоровых добровольцев существенно пониженные уровни неклассических CD16+ моноцитов наблюдали через 6 недель после первой дозы huAb1 ("FPA008"). См. фиг. 11. У больных РА существенно пониженные уровни неклассических CD16+ моноцитов наблюдали через 2 недели после первой дозы huAb1. См. фиг. 12.

Таблица последовательностей

В табл. 6 приведены некоторые последовательности, обсуждаемые в настоящей заявке. Все последовательности полипептидов и антител показаны без лидерных последовательностей, если не указано иное.

Таблица 6. Последовательности и описания

SEQ ID NO	Описание	Последовательность				
1	hCSF1R (полноразмерный, без лидерной последовательности)	IPVIEPSVPE STNNATFQNT DQDALLPCLL IQSQDYQCSA AQIVCSASSV FQHAGNYSCV NLKVMVEAYP RLKPSEAGRY AASGYPPQNV SLLTVETLEH VACMSIMALL PYNEKWEFPR STAHADEKEA DLLNFLRRKA VDTYVEMRPV ASKNCIHRDV KWMAPESIFD KDGQMAQFPA ERDYNLPSS	LVVKGATVT GTYRCTEPGD TDPVLEAGVS LMGGRKVMIS DVNFDVFLQH ASNVQGHST GLQGFNWTYL SFLARNPGGW TWLQCSGHTD NQTYECRAHN LLLLLLLLLYK NNLQFGKTLG LMSCLKIMSH EAMLGPSLSP STSSNDSFSE AARNVLLTNG CVYTVQSDVW FAPKNIYSIM SRSGGSGSSS	LRCVGNNGSVE PLGGSAAIHL LVRVRGRPLM SIRLKVQKVI SMFFRVVESA GPFSDHQPEP RALTFELTLR RCDEAQVLQV SVGSGSWAFI YKQKPKYQVR AGAFGKVVEA LGQHENIVNL GQDPEGVDY QDLKEDGRP HVAKIGDFGL SYGILLWEIF QACWALEPTH SELEEESSSE	WDGPPSPHWT YVKDPAFPWN RHTNYSFSPW PGPPALTLVP SDFHNNRYQK YLNLSSEQNL KLANATTKDT YPPEVSVIWT WDDPYPEVLS PISAGATHP WKIIESYEGN TAFGLGKEDA LGACTHGGPV KNHLEKKYV LELRDLLHFS ARDIMNDSNY SLGLNPYPGI RPTFQQICSF HLTCCEQGD	LYSDGSSSIL VLAQEVVVF HGFTIHRKAF AELVRIRGEA VLTNLNDQVD IQEVTVGEG YRHTFTLSLP FINGSGTLLC QEPFHKVTVQ PDEFLFTPVV SYTFIDPTQL VLKVAVKMLK LVITEYCCYG RRDSGFSSQG SQVAQGMFL IVKGNARLPV LVNSKFYKLV LQEQAQEDRR AQPLLQPNNY
2	hCSF1R (полноразмерный, +лидерная последовательность)	MGPGVLLLLL DGPPSPHWT VKDPAFPWNV HTNYSFSPWH GPPALTLVPA DFHNNRYQKV LNLSSSEQLI LANATTKDTY PPEVSVIWT DDPYPEVLSQ ISAGANTHP KIIESYEGNS AFGLGKEDAV GACTHGGPVL NIHLEKKYVR ELRDLHFS RDIMNDSNYI LGLNPYPGIL PTFQQICSF LTCCEQGDIA	VATAWHGQGI YSDGSSSILS LAQEVVVFED QDALLPCLLT ELVRIRGEAA LTLNLNDQVDF QEVTVGEGLN INGSGTLLCA EPFHKVTVQS DEFLEFTPVV YTFIDPTQLP LKVAVKMLKS VITEYCCYGD DTYVEMRPVS QVAQGMFLA VKNARLPVK VNSKFYKLVK QEQAQEDRRE QPLLQPNNYQ	PVIEPSVPEL TNNATFQNTG QDALLPCLLT QSQDYQCSAL QIVCSASSVD QHAGNYSCVA SNVQGHST FLARNPGGWR WLQCSGHTDR LLTVETLEHN ACMSIMALLL NLQFGKTLGA MSELKIMSHL AMLGPSLSPG TSSNDSFSEQ SKNCIHRDVA WMAPESIFDC DGYQMAQPAF RDYTNLPSSS	VVKPGATVTL TYRCTEPGDP DPVLEAGVSL MGGRKVMIS VNFVDVFLQHN SNVQGHST LQGFNWTYL FLARNPGGWR CDEAQVLQVW QTYECRAHNS LLLLLLLLLYK NLQFGKTLGA MSELKIMSHL AMLGPSLSPG TSSNDSFSEQ ARNVLLTNGH VYTVQSDVWS APKNIYSIMQ RSGGSGSSSS	RCVGNNGSV LGGSAAIHL LVRVRGRPLM IRLKVQKVIP NTKLAIPQQS MFFRVVESAY PFSDHQPEPK ALTFTLRLY QDPAQVLQV VSGSGWAFIP KQKPKYQVRW GAFGKVVEAT GQHENIVNLL QDPEGVDYK DLKEDGRPL VAKIGDFGLA YGILLWEIFS ACWALEPTHR ELEEESSEH

5	hCSF1R ECD.506	IPVIEPSVPE	LVVKPGATVT	LRCVGNGSVE	WDGPPSPHWT	LYSDGSSSIL
		STNNATFQNT	GTyrCTEPGD	PLGGSAAIHL	YVKDPAWPWN	VLAQEVVVFE
		DQDALLPCLL	TDPVLEAGVS	LVRVRGRPLM	RHTNYSFSPW	HGFTIHRAKF
		IQSQDYQCSA	LMGGRKVMSI	SIRLKVQKVI	PGPPALTLVP	AELVRIRGEA
		AQIVCSASSV	DVNFDFVLQH	NNTKLAIPQQ	SDFHNNRYQK	VLTLNLDQVD
		FQHAGNYSKV	ASNQVGKHST	SMFFRVVESA	YLNLSSEQNL	IQEVTVGEGE
		NLKVMVEAYP	GLQGFNWTYL	GPFSHQPEP	KLANTTKDT	YRHTFTLSLP
		RLKPSEAGRY	SFLARNPGGW	RALTFELTLR	YPPEVSVIWT	FINGSGTLLC
		AASGYPQPNV	TWLQCSGHTD	RCDEAQVLQV	WDDPYPEVLS	QEPFHKVTVQ
		SLLTVETLEH	NQTYECRAHN	SVGSGSWAFI		
		PISAGAH				
		IPVIEPSVPE	LVVKPGATVT	LRCVGNGSVE	WDGPPSPHWT	LYSDGSSSIL
		STNNATFQNT	GTyrCTEPGD	PLGGSAAIHL	YVKDPAWPWN	VLAQEVVVFE
		DQDALLPCLL	TDPVLEAGVS	LVRVRGRPLM	RHTNYSFSPW	HGFTIHRAKF
		IQSQDYQCSA	LMGGRKVMSI	SIRLKVQKVI	PGPPALTLVP	AELVRIRGEA
6	hCSF1R ECD.506-Fc	AQIVCSASSV	DVNFDFVLQH	NNTKLAIPQQ	SDFHNNRYQK	VLTLNLDQVD
		FQHAGNYSKV	ASNQVGKHST	SMFFRVVESA	YLNLSSEQNL	IQEVTVGEGE
		NLKVMVEAYP	GLQGFNWTYL	GPFSHQPEP	KLANTTKDT	YRHTFTLSLP
		RLKPSEAGRY	SFLARNPGGW	RALTFELTLR	YPPEVSVIWT	FINGSGTLLC
		AASGYPQPNV	TWLQCSGHTD	RCDEAQVLQV	WDDPYPEVLS	QEPFHKVTVQ
		SLLTVETLEH	NQTYECRAHN	SVGSGSWAFI	PISAGAHEPK	SSDKTHTCPP
		CPAPELLGGP	SVFLFPPKPK	DTLMISRTPE	VTCVVVDVSH	EDPEVKFNWY
		VDGVEVHNAK	TKPREEQYNS	TYRVVSVLTV	LHQDWLNGKE	YKCKVSNKAL
		PAPIEKTISK	AKGQPREPQV	YTLPPSRDEL	TKNQVSLTCL	VKGFYPSDIA
		VEWESNGQPE	NNYKTPPVVL	DSGGSFFLYS	KLTVDKSRWQ	QGNVFSCSVM
		HEALHNYHTQ	KSLSLSPGK			
		MGPGVLLLLL	VVTAWHGQGI	PVIEPSGPEL	VVKPGETVTL	RCVGNGSVEW
		DGPISPHWTL	YSDGFSSVLT	TTNATFQNTR	TYRCTEPGDP	LGGSAAIHL
		VKDPAWPWNV	LAKEVVVFED	QDALLPCLLT	DPVLEAGVSL	VRLRGRPLLR
		HTNYSFSPWH	GFTIHRAKFI	QGQDYQCSAL	MGSRKVMSIS	IRLKVQKVIP
7	cynoCSF1R ECD (с лидерной последовательностью)	GPPALTLVPA	ELVRIRGEAA	QIVCSASNID	VDFDVFLQHN	TTKLAIPQRS
		DFHDNRYQKV	LTLSLGQVDF	QHAGNYSKVA	SNVQGKHSTS	MFFRVVESAY
		LDLSSEQNLI	QEVTVGEGLN	LKVMVEAYPG	LQGFNWTYLG	PFSDHQPEPK
		LANATTKDITY	RHTFTLSLPR	LKPSEAGRYS	FLARNPGGWR	ALTFELTLRY
		PPEVSVIWT	INGSGTLLCA	ASGYPQPNVT	WLQCAGHTDR	CDEAQVLQVW
		VDPHPPEVLSQ	EPFQKVTVQS	LLTAETLEHN	QTYECRAHNS	VGSGSWAFIP
		ISAGAR				

8	сyноCSF1R ECD-Fc (с лидерной последовательностью)	MGPVLLLLLL VVTAWHGQGI PVIEPSGPPEL VVKPGETVTL RCVGNNGSVEW DGPISPHWTL YSDGPSSVLT TTNATFQNTR TYRCTEPGDP LGGSAAIHLV VKDPAWPWNV LAKEVVVFED QDALLPCLLT DPVLEAGVSL VRLRGRPLLR HTNYSFSPWH GFTIHRAKFI QGQDYQCSAL MGSRKVMSIS IRLKVQKVIP GPPALTLVPA ELVRIRGEAA QIVCSASNID VDFDVFLQHN TTKLAIPQRS DFHDNRYQKV LTLSLGQVDF QHAGNYSCVA SNVQKQKSTS MFFRVVESAY LDLSSEQNLI QEVTVGEGLN LKVMVEAYPG LQGFNWTYLG PFSQDHQPEPK LANATTKDITY RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFFELTRY PPEVSVIWT S INSGTLLCA ASGYPPQNV T WLQCAGHTDR CDEAQVLQVW VDPHPEVLSQ EPFQKVTVQS LLTAETLEHN QTYECRAHNS VSGSGWAFIP ISAGARGSEP KSSDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
3	Лидерная последовательность легкой цепи	METDTLLLLWV LLLWVPGSTG
4	Лидерная последовательность тяжелой цепи	MAVLGLLLCL VTFPSCVLS
9	Fab 0301 вариабельная область тяжелой цепи	EVQLQSGGPE LVRPGASVKM SCKASGYTFT DNYMIWVKQS HGKSLEWIGD INPYNGGTTF NQKFKGKATL TVEKSSSTAY MQLNSLTSED SAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGTSTVTV SS
10	Fab 0301 вариабельная область легкой цепи	NIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSV D YDGDNYMNWY QQKPGQPPKL LIYTAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAATY YCHLSNEDLS TFGGGKLEI K
11	Fab 0302 вариабельная область тяжелой цепи	EIQLQSGGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFS DFNHWWVKQK PGQGLEWIGY INPYTDVTY NEKFKGKATL TSDRSSSTAY MDLSSLTSED SAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGTSTVTV S
12	Fab 0302 вариабельная область легкой цепи	DVVVTQTPAS LAVSLGQRAT ISCRASEVD NYGLSFMNWF QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGGG SRTDFTLTID PVEEEDAATY FCQKSKELPW TFGGGTRLEI K
13	Fab 0311 вариабельная область тяжелой цепи	EIQLQSGGPD IMKPGASVKM SCKASGYIFT DYNMHWVKQN QGKSLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGTTTL TVDKSSSTAY MDLHSLTSED SAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGKGTTTLTV SS
14	Fab 0311 вариабельная область легкой цепи	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSV D YDGDSHMNWY QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIH PVEEEDAATY YCQQGNEDPW TFGGGTRLEI K
15	0301 CDR1 тяжелой цепи	GYTFTDNYMI
16	0301 CDR2 тяжелой цепи	DINPYNGGTT FNQKFKG
17	0301 CDR3 тяжелой цепи	ESPYFSNLYV MDY
18	0301 CDR1 легкой цепи	KASQSVDYDG DNYMN
19	0301 CDR2 легкой цепи	AASNLES
20	0301 CDR3 легкой цепи	HLSNEDLST
21	0302 CDR1 тяжелой цепи	GYTFSDFNH
22	0302 CDR2 тяжелой цепи	YINPYTDVTY YNEKFKG
23	0302 CDR3 тяжелой цепи	YFDGTFDYAL DY
24	0302 CDR1 легкой цепи	RASESVDNYG LSFMN
25	0302 CDR2 легкой цепи	TASNLES

26	0302 CDR3 легкой цепи	QQSKELPWT			
27	0311 CDR1 тяжелой цепи	GYIFTDYNMH			
28	0311 CDR2 тяжелой цепи	EINPNNGVVV YNQKFKG			
29	0311 CDR3 тяжелой цепи	ALYHSNFGWY FDS			
30	0311 CDR1 легкой цепи	KASQSVDDYDG DSHMN			
31	0311 CDR2 легкой цепи	TASNLES			
32	0311 CDR3 легкой цепи	QQGNEDPWT			
33	cAb 0301 тяжелая цепь	EVQLQSSGPE LVRPGASVKM SCKASGYTFT DNYMIWVKQS HGKSLEWIGD INPYNGGTTF NQKFKGKATL TVEKSSSTAY MQLNSLTSED SAVYYCAREB PYFSNLYVMD YWGQGTSTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT KTYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP SVFLFPKPK DTLMISRTPE VTCVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSQSVH HEALHNHYTQ KSLSLSLGK			
34	cAb 0301 легкая цепь	NIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSV D YGDNMWNWY QQKPGQPPKL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAATY YCHLSNEDLS TFGGGTKLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC			
35	cAb 0302 тяжелая цепь	EIQLQSSGPE LVRPGASVKM SCKASGYTFS DFNHNVKQK PGQGLEWIGY INPYTDVTYV NEKFKGKATL TSDRSSSTAY MDLSSLTSED SAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGTSTITVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV VTPSSSLGTK TYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP VFLFPKPKD DTLMISRTPEV TCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK KPREEQFNST YRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEM TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NNYKTTPPVL SDGSFFLYSR RLTVDKSRWQ EGNVFSQSVH EALHNHYTQ KSLSLSLGK			
36	cAb 0302 легкая цепь	DVVVTQTPAS LAVSLGQRAT ISCRASESD NYGLSEFMWF QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTID PVEADDAATY FCQQSKELPW TFGGGTRLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC			
37	cAb 0311 тяжелая цепь	EIQLQSSGPD LMKPGASVKM SCKASGYIFT DYNMHWKQN QGKSLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGTTL TVDKSSSTAY MDLHSLTSED SAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGKGTTLTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT KTYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP SVFLFPKPK DTLMISRTPE VTCVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSQSVH HEALHNHYTQ KSLSLSLGK			

38	cAb 0311 легкая цепь	DIVLTQSPAS LIYTASNLES TFGGGTRLEI QWKVDNALQS THQGLSSPVT	LAVSLGQRAT GIPARFSGSG KRTVAAPSVF GNSQESVTEQ KSFNRGEC	ISCKASQSVD SGADFTLTIH IFPPSDEQLK DSKDYSTYSL STLTLSKADY	YDGDHNMNWX PVEEEDAATY SGTASVVCLL STLTLSKADY ECHKVYACEV	QKPGQPPKLL YCQGNEDPW NNFYPREAKV ECHKVYACEV
39	h0301-H0 переменная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE INPYNGGTF PYFSNLYVMD	VKKPGSSVKV NQKFKGRVTI YWGQGLTVTV	SCKASGYTFT TADKSTSTAY SS	DNYMIWVRQA MELSSLRSED	PGQGLEWMGD TAVYYCARES
40	h0301-H1 переменная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE INPYNGGTF PYFSNLYVMD	VKKPGSSVKV NQKFKGRVTI YWGQGLTVTV	SCKASGYTFT TADKSTSTAY SS	DNYMIWVRQA MELSSLRSED	PGQGLEWMGD TAVYYCARES
41	h0301-H2 переменная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE INPYNGGTF PYFSNLYVMD	VKKPGSSVKV NQKFKGRATL YWGQGLTVTV	SCKASGYTFT TADKSTSTAY SS	DNYMIWVRQA MELSSLRSED	PGQGLEWMGD TAVYYCARES
42	H0302-H1 переменная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE INPYTDVTYV DGTFDYALDY	VKKPGSSVKV NEKFKGRVTI WGQGLTVTVS	SCKASGYTFT TADKSTSTAY S	DFNIHWVRQA MELSSLRSED	PGQGLEWMGY TAVYYCASYF
43	H0302-H2 переменная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE INPYTDVTYV DGTFDYALDY	VKKPGSSVKV NEKFKGRATL WGQGLTVTVS	SCKASGYTFT TADKSTSTAY S	DFNIHWVRQA MELSSLRSED	PGQGLEWMGY TAVYYCASYF
44	H0311-H1 переменная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE INPNNGVVVY YHSNFGWYFD	VKKPGSSVKV NQKFKGRVTI SWGQGLTVTV	SCKASGYIFT TADKSTSTAY SS	DYNIHWVRQA MELSSLRSED	PGQGLEWMGE TAVYYCTRAL
45	H0311-H2 переменная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE INPNNGVVVY YHSNFGWYFD	VKKPGSSVKV NQKFKGTTLT SWGQGLTVTV	SCKASGYIFT TADKSTSTAY SS	DYNIHWVRQA MELSSLRSED	PGQGLEWMGE TAVYYCTRAL
46	h0301-L0 переменная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LIYAASNLES TFGGGTKVEI	LSLSPGERAT GIPARFSGSG K	LSCASQSVD SGTDFTLTIS K	YDGDNYMNWX SLEPEDFAVY	QKPGQAPRL YCHLSNEDLS
47	h0301-L1 переменная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LIYAASNLES TFGGGTKVEI	LSLSPGERAT GIPARFSGSG K	LSCASQSVD SGTDFTLTIS K	YDGDNYMNWX SLEPEDFAVY	QKPGQAPRL YCHLSNEDLS
48	H0302-L0 переменная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LIYTASNLES TFGQGTKEI	LSLSPGERAT GIPARFSGSG K	LSCASESVD SGTDFTLTIS K	NYGLSFMNWX SLEPEDFAVY	QKPGQAPRL YCQSKELPW
49	H0302-L1 переменная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LIYTASNLES TFGQGTKEI	LSLSPGERAT GIPARFSGSG K	LSCASESVD SRTDFTLTIS K	NYGLSFMNWX SLEPEDFAVY	QKPGQAPRL YCQSKELPW
50	H0302-L2 переменная область легкой цепи	EIVVTQSPAT LIYTASNLES TFGQGTKEI	LSLSPGERAT GIPARFSGSG K	LSCASESVD SRTDFTLTIS K	NYGLSFMNWX SLEPEDFAVY	QKPGQAPRL YCQSKELPW
51	H0311-L0 переменная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LIYTASNLES TFGQGTKEI	LSLSPGERAT GIPARFSGSG K	LSCASQSVD SGTDFTLTIS K	YDGDHNMNWX SLEPEDFAVY	QKPGQAPRL YCQGNEDPW
52	H0311-L1 переменная область легкой цепи	DIVLTQSPAT LIYTASNLES TFGQGTKEI	LSLSPGERAT GIPARFSGSG K	LSCASQSVD SGADFTLTIS K	YDGDHNMNWX SLEPEDFAVY	QKPGQAPRL YCQGNEDPW

53	h0301-H0 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE INPYNGGTTF PYFSNLYVMD VKDYFPEPVT KTYTCNVDPHK DTLMISRTPE TYRVVSVLTV YTLPPSQEEM DSDGSFFLYS	VKKPGSSSVKV NQKFKGRVTI YWGQGTLLTV VSWNSGALTS PSNTKVDRV VTCVVVDVSQ LHQDWLNGKE TKNQVSLTCL RLTVDKSRWQ	SCKASGYTFT TADKSTSTAY SSASTKGPSV GVHTFPAVLQ ESKYGPPCPP EDPEVQFNWY YKCKVSNKGL VKGFYPSDIA EGNVFSCSVM	DNYMIWVRQA MELSSLRSED FPLAPCSRST SSGLYSLSSV CPAPEFLGGP VDGVEVHNAK PSSIEKTISK VEWESNGQPE HEALHNHYTQ	PGQGLEWMGD TAVYYCARES SESTAALGCL VTVPSSSLGT SVFLFPPKPK TKPREEQFNS AKGQPREPQV NNYKTTTPPVL KSLSLSLGK
54	h0301-H1 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE INPYNGGTTF PYFSNLYVMD VKDYFPEPVT KTYTCNVDPHK DTLMISRTPE TYRVVSVLTV YTLPPSQEEM DSDGSFFLYS	VKKPGSSSVKV NQKFKGRVTI YWGQGTLLTV VSWNSGALTS PSNTKVDRV VTCVVVDVSQ LHQDWLNGKE TKNQVSLTCL RLTVDKSRWQ	SCKASGYTFT TADKSTSTAY SSASTKGPSV GVHTFPAVLQ ESKYGPPCPP EDPEVQFNWY YKCKVSNKGL VKGFYPSDIA EGNVFSCSVM	DNYMIWVRQA MELSSLRSED FPLAPCSRST SSGLYSLSSV CPAPEFLGGP VDGVEVHNAK PSSIEKTISK VEWESNGQPE HEALHNHYTQ	PGQGLEWMGD TAVYYCARES SESTAALGCL VTVPSSSLGT SVFLFPPKPK TKPREEQFNS AKGQPREPQV NNYKTTTPPVL KSLSLSLGK
55	h0301-H2 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE INPYNGGTTF PYFSNLYVMD VKDYFPEPVT KTYTCNVDPHK DTLMISRTPE TYRVVSVLTV YTLPPSQEEM DSDGSFFLYS	VKKPGSSSVKV NQKFKGRATL YWGQGTLLTV VSWNSGALTS PSNTKVDRV VTCVVVDVSQ LHQDWLNGKE TKNQVSLTCL RLTVDKSRWQ	SCKASGYTFT TADKSTSTAY SSASTKGPSV GVHTFPAVLQ ESKYGPPCPP EDPEVQFNWY YKCKVSNKGL VKGFYPSDIA EGNVFSCSVM	DNYMIWVRQA MELSSLRSED FPLAPCSRST SSGLYSLSSV CPAPEFLGGP VDGVEVHNAK PSSIEKTISK VEWESNGQPE HEALHNHYTQ	PGQGLEWIGD TAVYYCARES SESTAALGCL VTVPSSSLGT SVFLFPPKPK TKPREEQFNS AKGQPREPQV NNYKTTTPPVL KSLSLSLGK
56	H0302-H1 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE INPYTDVTVY DGTFDYALDY KDYFPEPVTV TYTCNVDPHK TLTMSRTPEV YRVVSVLTVL TLPPSQEEMT SDGSFFLYSR	VKKPGSSSVKV NEKFKGRVTI WGQGTLLTVS SWNSGALTSG SNTKVDRVE TCVVVDVSQ HQDWLNGKEY KNQVSLTCLV LTVDKSRWQ	SCKASGYTFS TSDKSTSTAY SASTKGPSVF VHTFPAVLQS SKYGPPCPPC DPEVQFNWYV KCKVSNKGLP KGFYPSDIAV GNVFSCSVMH	DFNIHWVRQA MELSSLRSED PLAPCSRSTS SGLYSLSSSV PAPEFLGGPS DGVEVHNAKT SSIEKTISKA EWESNGQPEN EALHNHYTQK	PGQGLEWMGY TAVYYCASYF ESTAALGCLV TVPSSSLGTK VFLFPPKPKD KPREEQFNST KGQPREPQVY NYKTTTPPVL SLSLSLGK
57	H0302-H2 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE INPYTDVTVY DGTFDYALDY KDYFPEPVTV TYTCNVDPHK TLTMSRTPEV YRVVSVLTVL TLPPSQEEMT SDGSFFLYSR	VKKPGSSSVKV NEKFKGRATL WGQGTLLTVS SWNSGALTSG SNTKVDRVE TCVVVDVSQ HQDWLNGKEY KNQVSLTCLV LTVDKSRWQ	SCKASGYTFS TSDKSTSTAY SASTKGPSVF VHTFPAVLQS SKYGPPCPPC DPEVQFNWYV KCKVSNKGLP KGFYPSDIAV GNVFSCSVMH	DFNIHWVRQA MELSSLRSED PLAPCSRSTS SGLYSLSSSV PAPEFLGGPS DGVEVHNAKT SSIEKTISKA EWESNGQPEN EALHNHYTQK	PGQGLEWIGY TAVYYCASYF ESTAALGCLV TVPSSSLGTK VFLFPPKPKD KPREEQFNST KGQPREPQVY NYKTTTPPVL SLSLSLGK
58	H0311-H1 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE INPNNGVVVY YHSNFGWYFD VKDYFPEPVT KTYTCNVDPHK DTLMISRTPE TYRVVSVLTV YTLPPSQEEM DSDGSFFLYS	VKKPGSSSVKV NQKFKGRVTI SWGQGTLLTV VSWNSGALTS PSNTKVDRV VTCVVVDVSQ LHQDWLNGKE TKNQVSLTCL RLTVDKSRWQ	SCKASGYIFT TADKSTSTAY SSASTKGPSV GVHTFPAVLQ ESKYGPPCPP EDPEVQFNWY YKCKVSNKGL VKGFYPSDIA EGNVFSCSVM	DYNMHWVRQA MELSSLRSED FPLAPCSRST SSGLYSLSSV CPAPEFLGGP VDGVEVHNAK PSSIEKTISK VEWESNGQPE HEALHNHYTQ	PGQGLEWMGE TAVYYCTRAL SESTAALGCL VTVPSSSLGT SVFLFPPKPK TKPREEQFNS AKGQPREPQV NNYKTTTPPVL KSLSLSLGK

59	H0311-H2 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE INPNNGVVVY YHSNFGWYFD VKDYFPEPVT KTYTCNVDHK DTLMISRPE TYRVSVLTV YTLPPSQEEM DSDGSFFLYS	VKKPGSSVKV NQKFKGTTTL SWGQGLTVTV VSWNSGALTS FSNTKVDKRV VTCVVVDVSQ LHQDWLNGKE TKNQVSLTCL RLTVDKSRWQ	SCKASGYIFT TVDKSTSTAY SSASTKGPSV GVHTFPAVLQ ESKYGPPCPP EDPEVQFNWY YKCKVSNKGL VKGFYPSDIA EGNVFSCSVM	DYNMHWVRQA MELSSLRSER FPLAPCSRST SSGLYSLSV CPAPEFLGGP VDGVEVHNAK PSSIEKTISK VEWESNGQPE HEALHNHYTQ	PGQGLEWMGE TAVYYCTRAL SESTAALGCL VTVPSSSLGT SVFLFPPKPK TKPREEQFNS AKGQPREPQV NNYKTTTPVL KSLSLSLGK
60	h0301-L0 легкая цепь	EIVLTQSPAT LIYAASNLES TFGGGKVEI QWKVDNALQS THQGLSSPVT	LSLSPGERAT GIPARFSGSG KRTVAAPSVF GNSQESVTEQ KSFNRGEC	LSCASQSVD SGTDFTLTIS IFPPSDEQLK DSKDSTYSL STLTLSKADY	YDGDNYMNWY SLEPEDFAVY SGTASVVCLL NNFYPREAKV EKKHKVYACEV	QKPGQAPRL YCHLSNEDLS NNFYPREAKV EKKHKVYACEV
61	h0301-L1 легкая цепь	EIVLTQSPAT LIYAASNLES TFGGGKVEI QWKVDNALQS THQGLSSPVT	LSLSPGERAT GIPARFSGSG KRTVAAPSVF GNSQESVTEQ KSFNRGEC	LSCASQSVD SGTDFTLTIS IFPPSDEQLK DSKDSTYSL STLTLSKADY	YDGDNYMNWY SLEPEDFAVY SGTASVVCLL NNFYPREAKV EKKHKVYACEV	QKPGQAPRL YCHLSNEDLS NNFYPREAKV EKKHKVYACEV
62	H0302-L0 легкая цепь	EIVLTQSPAT LIYTASNLES TFGGGKVEI QWKVDNALQS THQGLSSPVT	LSLSPGERAT GIPARFSGSG KRTVAAPSVF GNSQESVTEQ KSFNRGEC	LSCRASESVD SGTDFTLTIS IFPPSDEQLK DSKDSTYSL STLTLSKADY	NYGLSFMNMY SLEPEDFAVY SGTASVVCLL NNFYPREAKV EKKHKVYACEV	QKPGQAPRL YCCQSKELPW NNFYPREAKV EKKHKVYACEV
63	H0302-L1 легкая цепь	EIVLTQSPAT LIYTASNLES TFGGGKVEI QWKVDNALQS THQGLSSPVT	LSLSPGERAT GIPARFSGSG KRTVAAPSVF GNSQESVTEQ KSFNRGEC	LSCRASESVD SRTDFTLTIS IFPPSDEQLK DSKDSTYSL STLTLSKADY	NYGLSFMNMY SLEPEDFAVY SGTASVVCLL NNFYPREAKV EKKHKVYACEV	QKPGQAPRL YCCQSKELPW NNFYPREAKV EKKHKVYACEV
64	H0302-L2 легкая цепь	EIVVTQSPAT LIYTASNLES TFGGGKVEI QWKVDNALQS THQGLSSPVT	LSLSPGERAT GIPARFSGSG KRTVAAPSVF GNSQESVTEQ KSFNRGEC	LSCRASESVD SRTDFTLTIS IFPPSDEQLK DSKDSTYSL STLTLSKADY	NYGLSFMNWF SLEPEDFAVY SGTASVVCLL NNFYPREAKV EKKHKVYACEV	QKPGQAPRL YCCQSKELPW NNFYPREAKV EKKHKVYACEV
65	H0311-L0 легкая цепь	EIVLTQSPAT LIYTASNLES TFGGGKVEI QWKVDNALQS THQGLSSPVT	LSLSPGERAT GIPARFSGSG KRTVAAPSVF GNSQESVTEQ KSFNRGEC	LSCASQSVD SGTDFTLTIS IFPPSDEQLK DSKDSTYSL STLTLSKADY	YDGDHNMWY SLEPEDFAVY SGTASVVCLL NNFYPREAKV EKKHKVYACEV	QKPGQAPRL YCCQGNEDPW NNFYPREAKV EKKHKVYACEV
66	H0311-L1 легкая цепь	DIVLTQSPAT LIYTASNLES TFGGGKVEI QWKVDNALQS THQGLSSPVT	LSLSPGERAT GIPARFSGSG KRTVAAPSVF GNSQESVTEQ KSFNRGEC	LSCASQSVD SGADFTLTIS IFPPSDEQLK DSKDSTYSL STLTLSKADY	YDGDHNMWY SLEPEDFAVY SGTASVVCLL NNFYPREAKV EKKHKVYACEV	QKPGQAPRL YCCQGNEDPW NNFYPREAKV EKKHKVYACEV
67	CSF1 человека	EEVSEYCSHM KKAFLLVQDI ACVRTFYETP HERQSEGS	IGSGHLQSLQ MEDTMRFRDN LQLEKVKNV	RLIDSMETS TPNAIAIVQL FNETKNLLDK	CQITFEFVDQ QELSLRLKSC DWNIFSKNCN	EQLKDPVCYL FTKDYEEHDK NSFAECSSQG

68	IL-34 человека	NEPLEMWPLT QNEECTVTGF LRDKLQYRSR LQYMKHYFPI NYKISVPYEG VFRIANVTRL QRAQVSEREL RYLWVLVLSLATESVQDVLLE EGHPSWKYLQ EVQTLILLNVQ QGLTDVEVSP KVESVLSLLN APGPNLKLVR PKALLDNCFR VMELLYCSCC KQSSVLNWQD CEVPSPQSCS PEPSLQYAAT QLYPPPPWSP SSPPHSTGSV RPVRAQGEGL LP
69	Акцепторная A FR1 человека	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
70	Акцепторная A FR2 человека	WVRQAPGQGL EWMG
71	Акцепторная A FR3 человека	RVTITADKST STAYMELSSL RSEDТАVYYC AR
72	Акцепторная A FR4 человека	WGQGTЛTVTS S
73	Акцепторная B FR1 человека	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
74	Акцепторная B FR2 человека	WVRQAPGQGL EWMG
75	Акцепторная B FR3 человека	RVTITADKST STAYMELSSL RSEDТАVYYC AR
76	Акцепторная B FR4 человека	WGQGTЛTVTS
77	Акцепторная C FR1 человека	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
78	Акцепторная C FR2 человека	WVRQAPGQGL EWMG
79	Акцепторная C FR3 человека	RVTITADKST STAYMELSSL RSEDТАVYYC AR
80	Акцепторная C FR4 человека	WGQGTЛTVTS S
81	Акцепторная D FR1 человека	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
82	Акцепторная D FR2 человека	WYQQKPGQAP RLLIY
83	Акцепторная D FR3 человека	GIPARFSGSG SGTDFLTIS SLEPEDFAVY YC
84	Акцепторная D FR4 человека	FGGGTKVEIK
85	Акцепторная E FR1 человека	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
86	Акцепторная E FR2 человека	WYQQKPGQAP RLLIY
87	Акцепторная E FR3 человека	GIPARFSGSG SGTDFLTIS SLEPEDFAVY YC
88	Акцепторная E FR4 человека	FGGGTKVEIK
89	Акцепторная F FR1 человека	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
90	Акцепторная F FR2 человека	WYQQKPGQAP RLLIY
91	Акцепторная F FR3 человека	GIPARFSGSG SGTDFLTIS SLEPEDFAVY YC
92	Акцепторная F FR4 человека	FGGGTKVEIK
93	mCSF1R ECD-Fc	APVIEPSGPE LVVEPGETVT LRCVSNGSVE WDGPISPYWT LDPESPGSTL TTRNATFKNT GTYRCTELED PMAGSTTIHL YVKDPAHSWN LLAQEVTVVE GQEAIVLPLCI TDPALKDSVS LMREGGRQVL RKTVYFFSPW RGFIIRKAKV LDSNTYVCKT MVNGRESTST GIWLKVNVRH PEPPQIKLEP SKLVIRGEA AQIVCSATNA EVGFNVILKR GDTKLEIPLN SDFQDNYYKK VRALSLNAVD FQDAGIYSCV ASNDVGTRTA TMNFQVVESA YLNLTSEQSL LQEVSVGDSL ILTVHADAYP SIQHYNWTYL GPFEDQRKL EFITQRAIYR YTFKLFЛNRV KASEAGQYFL MAQNKAGWNN LTFELTLRYP PEVSVTWMPV NGSDVLFCDV SGYPQPSVTW MECRGHTDRC DEAQALQVWN DTHPEVLSQK PFDKVIISQ LPIGTLKHNМ TYFCKTHNSV GNSSQYFRAV SLGQSKQEPK SSDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTPPVЛ DSDGSFFLYS KЛTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK
94	IgG4 S241P человека	ASTKGPSVFPL LAPCSRSTSE STAALGCЛVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK FREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLD S DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSLGK
95	IgK человека	RTVAAPSVEI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения заболевания, связанного с CD16+, у человека, включающий введение человеку эффективного количества антитела, которое связывается с рецептором колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R) человека,

где антитело блокирует связывание колониестимулирующего фактора 1 (CSF1) человека с CSF1R и блокирует связывание IL-34 человека с CSF1R человека, и

- где антитело содержит
тяжелую цепь, содержащую
CDR1 тяжелой цепи (HC) с последовательностью SEQ ID NO: 15,
CDR2 HC с последовательностью SEQ ID NO: 16 и
CDR3 HC с последовательностью SEQ ID NO: 17, и
легкую цепь, содержащую
CDR1 легкой цепи (LC) с последовательностью SEQ ID NO: 18,
CDR2 LC с последовательностью SEQ ID NO: 19 и
CDR3 LC с последовательностью SEQ ID NO: 20,
где эффективное количество является достаточным для уменьшения количества неклассических CD16+ моноцитов у человека по меньшей мере на 50% на протяжении по меньшей мере 4 недель после введения двух доз.
2. Способ по п.1, в котором эффективное количество составляет от 3 до 10 мг/кг.
 3. Способ по п.1 или 2, в котором дозу антитела вводят с частотой один раз в две недели или дольше.
 4. Способ лечения заболевания, связанного с CD16+, у человека, включающий введение человеку антитела, которое связывается с рецептором колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R) человека, где антитело блокирует связывание колониестимулирующего фактора 1 (CSF1) человека с CSF1R человека и блокирует связывание IL-34 человека с CSF1R человека, и где антитело содержит
тяжелую цепь, содержащую
CDR1 тяжелой цепи (HC) с последовательностью SEQ ID NO: 15,
CDR2 HC с последовательностью SEQ ID NO: 16, и
CDR3 HC с последовательностью SEQ ID NO: 17, и
легкую цепь, содержащую
CDR1 легкой цепи (LC) с последовательностью SEQ ID NO: 18,
CDR2 LC с последовательностью SEQ ID NO: 19, и
CDR3 LC с последовательностью SEQ ID NO: 20,
где антитело вводят в дозе от 3 и 10 мг/кг и с частотой один раз в две недели или дольше.
 5. Способ по любому из пп.1-4, в котором частота введения дозы составляет один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в месяц, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в два месяца, один раз в три месяца или четыре раза в год.
 6. Способ по п.4, в котором способ включает введение одной дозы антитела.
 7. Способ по любому из пп.1-5, который включает введение двух доз антитела.
 8. Способ по п.7, в котором дозы вводят с перерывом по меньшей мере в две недели.
 9. Способ по п.7, в котором дозы вводят с перерывом по меньшей мере в четыре недели.
 10. Способ по любому из пп.1-9, в котором доза составляет 3 или 10 мг/кг.
 11. Способ по любому из пп.1-10, в котором после введения одной дозы антитела количество неклассических CD16+ моноцитов у человека снижается по меньшей мере на 50%.
 12. Способ любой из пп.1-11, в котором количество CD16-моноцитов не снижается или снижается по меньшей мере на 20%.
 13. Способ по любому из пп.1-12, в котором после введения одной дозы антитела количество неклассических CD16+ моноцитов у человека снижается по меньшей мере на 70%.
 14. Способ по любому из пп.1-12, в котором после введения одной дозы антитела количество неклассических CD16+ моноцитов у человека снижается по меньшей мере на 90%.
 15. Способ по любому из пп.1-12, где количество неклассических CD16+ моноцитов снижается по меньшей мере на 50% в течение по меньшей мере одной недели, по меньшей мере двух недель, по меньшей мере трех недель, по меньшей мере четырех недель, по меньшей мере пяти недель, по меньшей мере шести недель, по меньшей мере семи недель или по меньшей мере восьми недель.
 16. Способ по любому из пп.1-15, который дополнительно включает определение количества неклассических CD16+ моноцитов в образце периферической крови человека после введения по меньшей мере одной дозы антитела.
 17. Способ по любому из пп.1-16, в котором CD16+ представляет собой неоплазию.
 18. Способ уменьшения числа неклассических CD16+ моноцитов у человека, страдающего заболеванием, связанным с CD16+, включающий введение человеку эффективного количества антитела, которое связывается с рецептором колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R) человека, где антитело блокирует связывание колониестимулирующего фактора 1 (CSF1) человека с CSF1R человека и блокирует связывание IL-34 человека с CSF1R человека, и где антитело содержит
тяжелую цепь, содержащую
CDR1 тяжелой цепи (HC) с последовательностью SEQ ID NO: 15,
CDR2 HC с последовательностью SEQ ID NO: 16, и

CDR3 HC с последовательностью SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC) с последовательностью SEQ ID NO: 18, CDR2 LC с последовательностью SEQ ID NO: 19, и CDR3 LC с последовательностью SEQ ID NO: 20, где эффективное количество является достаточным для уменьшения количества неклассических CD16+ моноцитов у человека по меньшей мере на 50% на протяжении по меньшей мере 4 недель после введения двух доз.

19. Способ по п.18, в котором эффективное количество составляет от 3 до 10 мг/кг.

20. Способ по п.18 или 19, в котором дозу антитела вводят с частотой один раз в две недели или дольше.

21. Способ уменьшения числа неклассических CD16+ моноцитов у человека, страдающего заболеванием, связанным с CD16+, включающий введение человеку антитела, которое связывается с рецептором колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R) человека,

где антитело блокирует связывание колониестимулирующего фактора 1 (CSF1) человека с CSF1R человека и блокирует связывание IL-34 человека с CSF1R человека, и

где антитело содержит

тяжелую цепь, содержащую

CDR1 тяжелой цепи (HC) с последовательностью SEQ ID NO: 15,

CDR2 HC с последовательностью SEQ ID NO: 16, и

CDR3 HC с последовательностью SEQ ID NO: 17, и

легкую цепь, содержащую

CDR1 легкой цепи (LC) с последовательностью SEQ ID NO: 18,

CDR2 LC с последовательностью SEQ ID NO: 19, и

CDR3 LC с последовательностью SEQ ID NO: 20,

где антитело вводят в дозе от 3 и 10 мг/кг и с частотой один раз в две недели или дольше.

22. Способ по любому из пп.18-21, в котором частота введения доз составляет один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в месяц, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель, один раз в два месяца, один раз в три месяца или четыре раза в год.

23. Способ по п.21, в котором способ включает введение одной дозы антитела.

24. Способ по любому из пп.18-22, который включает введение двух доз антитела.

25. Способ по п.24, в котором дозы вводят с перерывом по меньшей мере в две недели.

26. Способ по п.24, в котором дозы вводят с перерывом по меньшей мере в четыре недели.

27. Способ по любому из пп.18-26, в котором доза составляет 3 мг/кг или 10 мг/кг.

28. Способ по любому из пп.18-27, в котором после введения одной дозы антитела количество неклассических CD16+ моноцитов у человека снижается по меньшей мере на 50%.

29. Способ любой из пп.18-28, в котором количество CD16-моноцитов не снижается или снижается по меньшей мере на 20%.

30. Способ по любому из пп.18-29, в котором после введения одной дозы антитела количество неклассических CD16+ моноцитов у человека снижается по меньшей мере на 70%.

31. Способ по любому из пп.18-29, в котором после введения одной дозы антитела количество неклассических CD16+ моноцитов у человека снижается по меньшей мере на 90%.

32. Способ по любому из пп.18-29, где количество неклассических CD16+ моноцитов снижается по меньшей мере на 50% в течение по меньшей мере одной недели, по меньшей мере двух недель, по меньшей мере трех недель, по меньшей мере четырех недель, по меньшей мере пяти недель, по меньшей мере шести недель, по меньшей мере семи недель или по меньшей мере восьми недель.

33. Способ по любому из пп.18-32, который дополнительно включает определение количества неклассических CD16+ моноцитов в образце периферической крови человека после введения по меньшей мере одной дозы антитела.

34. Способ по любому из пп.1-33, в котором неклассическими CD16+ моноцитами являются CD16+ моноциты периферической крови.

35. Способ по любому из пп.1-34, в котором антитело содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 39 и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 46.

36. Способ по любому из пп.1-35, в котором антитело содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53 и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60.

37. Способ по любому из пп.1-35, в котором антитело представляет гуманизированное антитело.

38. Способ по любому из пп.1-35, в котором антитело выбрано из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')₂.

39. Способ по любому из пп.1-38, в котором антитело детектируется в сыворотке крови человека в течение по меньшей мере двух недель, по меньшей мере трех недель, по меньшей мере четырех недель, по меньшей мере месяца, по меньшей мере шести недель или по меньшей мере двух месяцев после введения дозы.

40. Способ по любому из пп.1-38, в котором антитело детектируется в сыворотке крови человека в течение по меньшей мере четырех недель, по меньшей мере месяца, по меньшей мере шести недель или

по меньшей мере двух месяцев после введения дозы.

41. Способ по любому из пп.1-40, в котором период полураспада антитела в образце крови человека превышает 15 дней.

42. Способ по любому из пп.1-40, в котором период полураспада антитела в образце крови человека превышает 28 дней.

43. Способ по любому из пп.1-40, в котором период полураспада антитела в образце крови человека превышает 42 дня.

ID Ат		L/H цепи	alt. CDRH1																																										
			CDRH1																																										
			A	N	T	Q	R	B	G	H	I	L	V	F	S	T	Y	C	K	A	S	G	N	T	Q	R	B	G	H	I	L	V	F	S	T	Y	C	K	A	S					
cAb0301 человеческая антигенная A	исходное	E	V	Q	L	Q	O	S	G	A	E	V	L	V	R	P	G	A	S	V	K	M	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	H	V	V	R	Q	A	P	G
	Ab2	H0301-L0H0	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab3	H0301-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	L	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	H	V	V	R	Q	A	P	G
	Ab4	H0301-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab5	H0301-L1H0	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab6	H0301-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab6	H0301-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	H	V	V	R	Q	A	P	G	
cAb0302 человеческая антигенная B	исходное	E	V	Q	L	Q	O	S	G	A	E	V	L	V	R	P	G	A	S	V	K	M	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	F	N	I	H	H	V	K	Q	K	P	G	
	Ab7	H0302-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	F	A	S	G	Y	T	F	T	D	F	N	I	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab8	H0302-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	F	N	I	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab9	H0302-L2H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	F	N	I	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab10	H0302-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	F	N	I	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab11	H0302-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	F	N	I	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab12	H0302-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	F	N	I	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
cAb 0311 человеческая антигенная C	исходное	H	I	Q	L	Q	C	S	G	F	D	L	M	K	P	G	A	S	V	K	M	S	C	F	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	H	V	K	Q	M	Q	G		
	Ab13	0311-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab14	0311-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab15	0311-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	
	Ab16	0311-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	H	V	V	R	Q	A	P	G	

ФИГ. 1А

ID At	L/H цепи	CDRH2																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																		
		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	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1001	1002	1003	1004	1005	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1012	1013	1014	1015	1016	1017	1018	1019	1020	1021	1022	1023	1024	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045	1046	1047	1048	1049	1050	1051	1052	1053	1054	1055	1056	1057	1058	1059	1060	1061	1062	1063	1064	1065	1066	1067	1068	1069	1070	1071	1072	1073	1074	1075	1076	1077	1078	1079	1080	1081	1082	1083	1084	1085	1086	1087	1088	1089	1090	1091	1092	1093	1094	1095	1096	1097	1098	1099	1100	1101	1102	1103	1104	1105	1106	1107	1108	1109	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116	1117	1118	1119	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1128	1129	1130	1131	1132	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	1140	1141	1142	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	1150	1151	1152	1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	1160	1161	1162	1163	1164	1165	1166	1167	1168	1169	1170	1171	1172	1173	1174	1175	1176	1177	1178	1179	1180	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188	1189	1190	1191	1192	1193	1194	1195	1196	1197	1198	1199	1200	1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1217	1218	1219	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1228	1229	1230	1231	1232	1233	1234	1235	1236	1237	1238	1239	1240	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247	1248	1249	1250	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257	1258	1259	1260	1261	1262	1263	1264	1265	1266	1267	1268	1269	1270	1271	1272	1273	1274	1275	1276	1277	1278	1279	1280	1281	1282	1283	1284	1285	1286	1287	1288	1289	1290	1291	1292	1293	1294	1295	1296	1297	1298	1299	1300	1301	1302	1303	1304	1305	1306	1307	1308	1309	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1318	1319	1320	1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1328	1329	1330	1331	1332	1333	1334	1335	1336	1337	1338	1339	1340	1341	1342	1343	1344	1345	1346	1347	1348	1349	1350	1351	1352	1353	1354	1355	1356	1357	1358	1359	1360	1361	1362	1363	1364	1365	1366	1367	1368	1369	1370	1371	1372	1373	1374	1375	1376	1377	1378	1379	1380	1381	1382	1383	1384	1385	1386	1387	1388	1389	1390	1391	1392	1393	1394	1395	1396	1397	1398	1399	1400	1401	1402	1403	1404	1405	1406	1407	1408	1409	1410	1411	1412	1413	1414	1415	1416	1417	1418	1419	1420	1421	1422	1423	1424	1425	1426	1427	1428	1429	1430	1431	1432	1433	1434	1435	1436	1437	1438	1439	1440	1441	1442	1443	1444	1445	1446	1447	1448	1449	1450	1451	1452	1453	1454	1455	1456	1457	1458	1459	1460	1461	1462	1463	1464	1465	1466	1467	1468	1469	1470	1471	1472	1473	1474	1475	1476	1477	1478	1479	1480	1481	1482	1483	1484	1485	1486	1487	1488	1489	1490	1491	1492	1493	1494

ФИГ. 1В

[illegible]

ФИГ. 1С

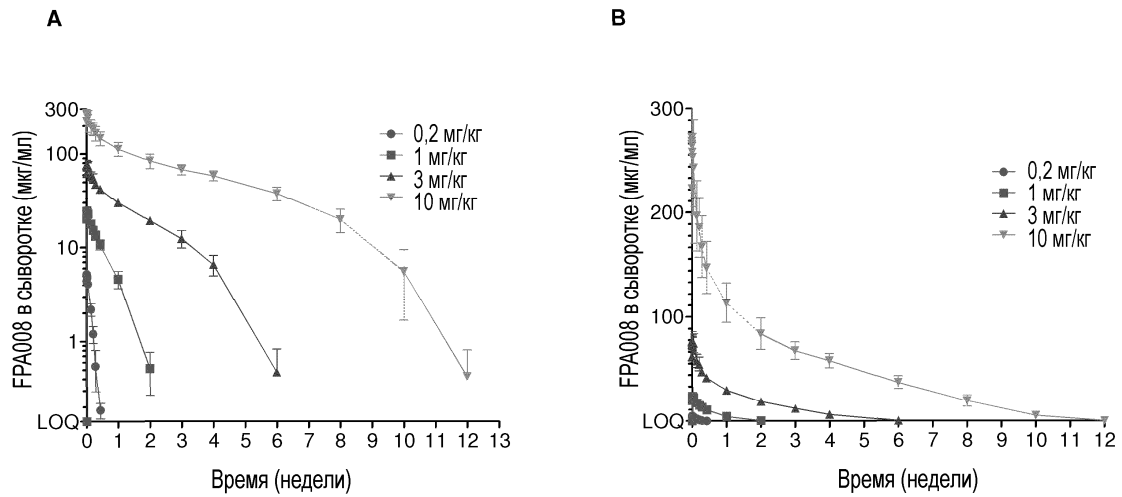
		CDRL1																																						
ID At	L/H цепи	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	27 ^a	27 ^b	27 ^c	27 ^d	28	29	30	31	32	33	34	
cAb0301	исходное	N	I	I	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
человеческая акцепторная D		E	I	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab1	h0301-L0H0	E	I	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab2	h0301-L0H1	E	I	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab3	h0301-L0H2	E	I	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab4	h0301-L1H0	N	I	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab5	h0301-L1H1	N	I	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab6	h0301-L1H2	N	I	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
cAb0302	исходное	D	I	V	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
человеческая акцепторная E		E	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab7	h0302-L0H1	E	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab8	h0302-L1H1	E	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab9	h0302-L2H1	E	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab10	h0302-L0H2	E	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab11	h0302-L1H2	E	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab12	h0302-L2H2	E	I	V	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
cAb 0311	исходное	D	I	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
человеческая акцепторная F		E	I	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab13	h0311-L0H1	E	I	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab14	h0311-L1H1	E	I	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab15	h0311-L0H2	E	I	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Ab16	h0311-L1H2	E	I	V	L	L	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

Фиг. 2A

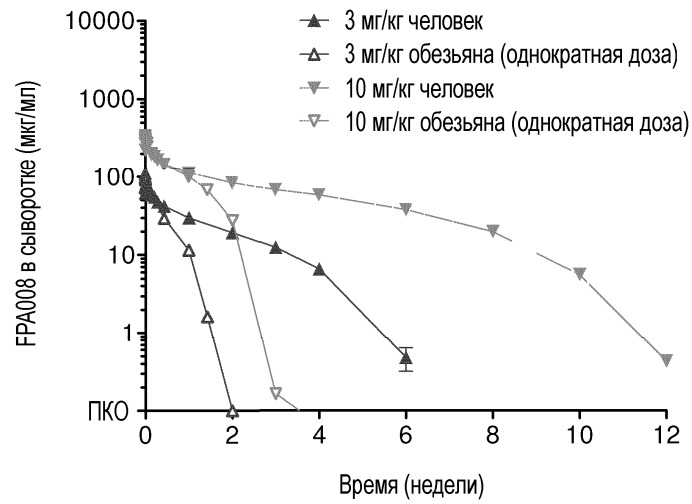
ID At	L/H цепи	CDRL2																																			
		35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
cAb0301	исходное	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	P	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
человеческая акцепторная D		W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab1	h0301-L0H0	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab2	h0301-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab3	h0301-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab4	h0301-L1H0	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab5	h0301-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab6	h0301-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
cAb0302	исходное	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	P	P	K	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
человеческая акцепторная E		W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab7	h0302-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab8	h0302-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab9	h0302-L2H1	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab10	h0302-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab11	h0302-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab12	h0302-L2H2	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
cAb 0311	исходное	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	P	P	K	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
человеческая акцепторная F		W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab13	h0311-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab14	h0311-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab15	h0311-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab16	h0311-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D

Фиг. 2B

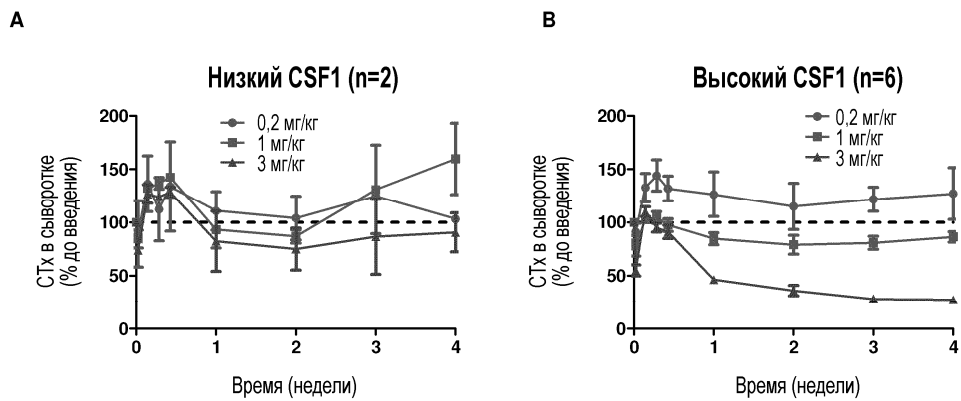
		CDRL3																	SEQ ID NO																						
ID At	L/H цепи	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	SEQ ID NO		
cAb0301	исходное	F	T	L	N	I	H	P	V	E	E	E	D	E	A	A	T	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	G	T	K	L	E	I	K	10
	человеческая акцепторная D	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	G	T	K	V	E	I	K	81-84	
	Ab1 h0301-L0H0	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	G	T	K	V	E	I	K	46	
	Ab2 h0301-L0H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	G	T	K	V	E	I	K	46	
	Ab3 h0301-L0H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	G	T	K	V	E	I	K	46	
	Ab4 h0301-L1H0	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	G	T	K	V	E	I	K	47	
	Ab5 h0301-L1H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	G	T	K	V	E	I	K	47	
Ab6 h0301-L1H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	G	T	K	V	E	I	K	47		
cAb0302	исходное	F	T	L	T	I	D	F	V	E	A	D	D	A	A	T	Y	F	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	G	T	R	L	E	I	K	12	
	человеческая акцепторная E	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	G	T	K	V	E	I	K	85-88	
	Ab7 h0302-L0H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	48	
	Ab8 h0302-L1H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	49	
	Ab9 h0302-L2H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	50	
	Ab10 h0302-L0H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	48	
	Ab11 h0302-L1H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	49	
Ab12 h0302-L2H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	50		
cAb 0311	исходное	F	T	L	T	I	H	P	V	E	E	E	D	A	A	T	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	G	G	G	T	R	L	E	I	K	14	
	человеческая акцепторная F	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	89-92	
	Ab13 h0311-L0H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	51	
	Ab14 h0311-L1H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	52	
	Ab15 h0311-L0H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	51	
	Ab16 h0311-L1H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	Q	G	T	K	V	E	I	K	51	



Фиг. 3

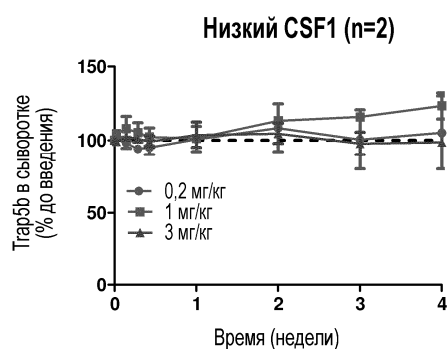


Фиг. 4

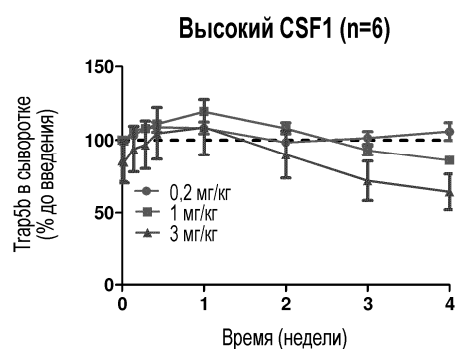


Фиг. 5

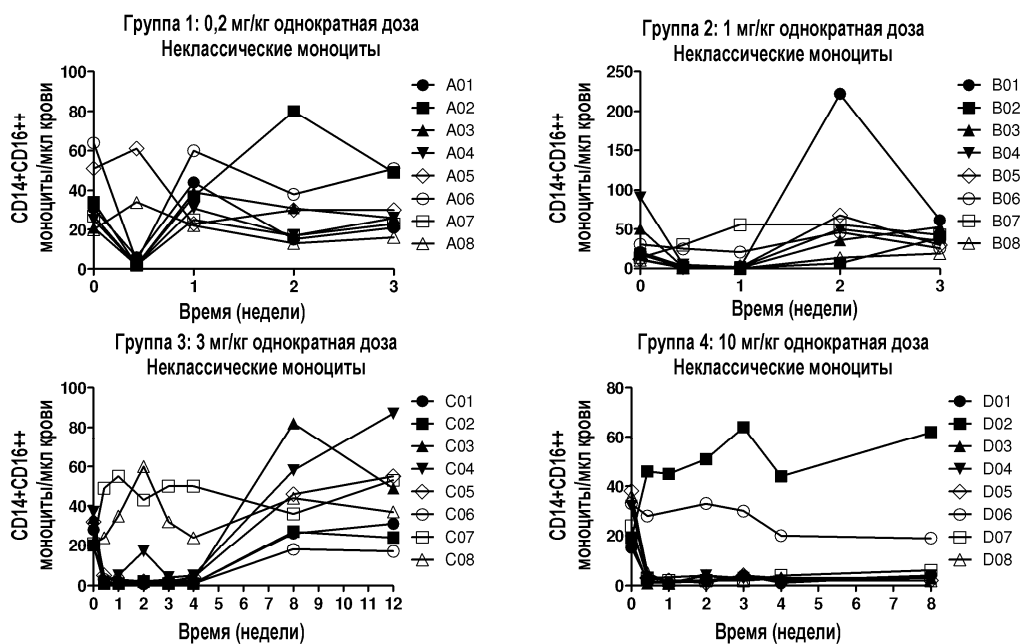
A



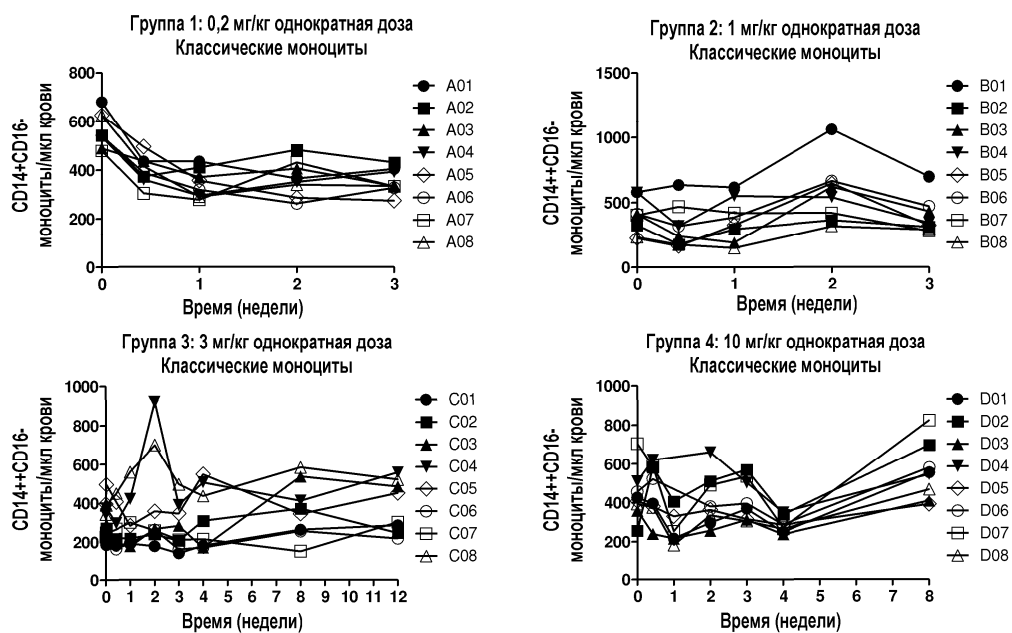
B



Фиг. 6

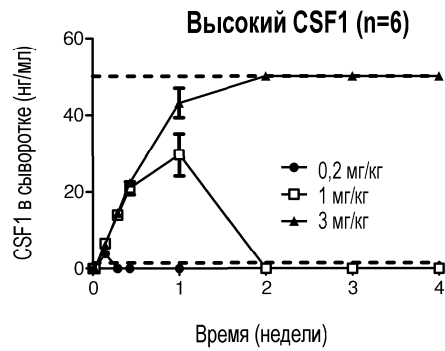


Фиг. 7

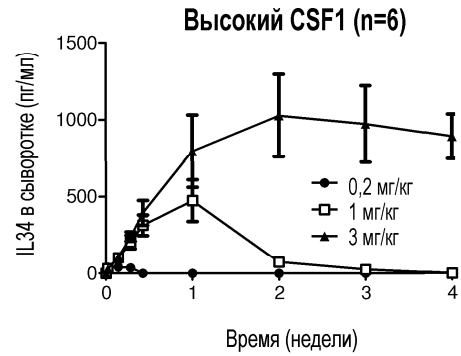


Фиг. 8

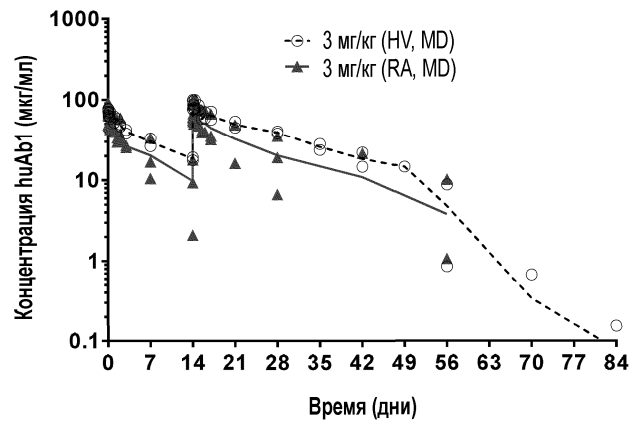
А



В

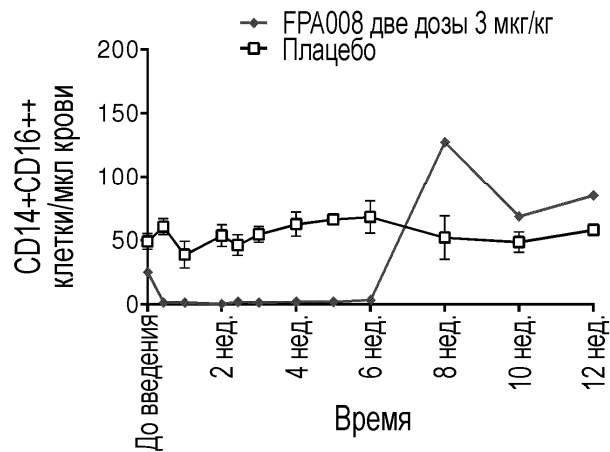


Фиг. 9



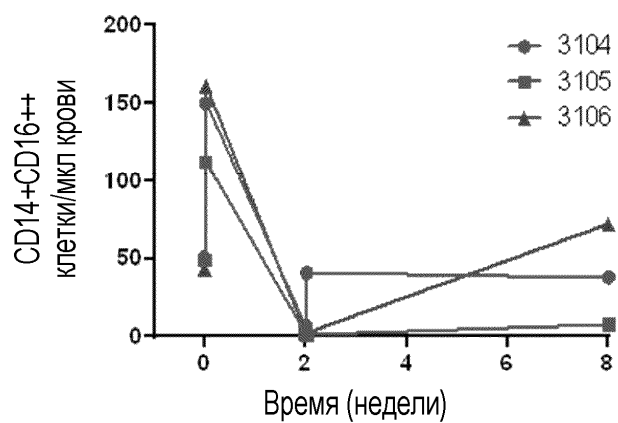
Фиг. 10

Часть 2 Неклассические CD16⁺ моноциты



Фиг. 11

Две дозы 3 мкг/кг
CD16+ неклассические моноциты



Фиг. 12

