

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202091631 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2021.02.20(51) Int. Cl. A61K 39/395 (2006.01)  
C07K 16/36 (2006.01)(22) Дата подачи заявки  
2019.01.04(54) АНТИТЕЛА К ТКАНЕВОМУ ФАКТОРУ, КОНЬЮГАТЫ АНТИТЕЛО-  
ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО И СВЯЗАННЫЕ СПОСОБЫ(31) 62/613,545; 62/613,564; 62/646,788;  
62/713,797; 62/713,804(72) Изобретатель:  
Теуниссен Ян-Виллем, Эйвери  
Эндрю Д. П, Кай Аллен Г., Купер  
Энтони Байрон, Мигон Ти-Сау (US)(32) 2018.01.04; 2018.01.04; 2018.03.22;  
2018.08.02; 2018.08.02

(33) US

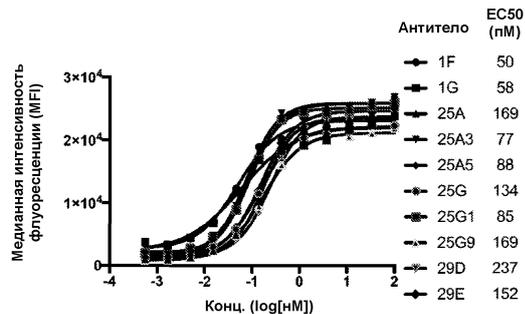
(74) Представитель:  
Парамонова К.В., Угрюмов В.М.,  
Христофоров А.А., Гизатуллин Ш.Ф.,  
Гизатуллина Е.М., Глухарёва А.О.,  
Костюшенкова М.Ю., Лебедев В.В.,  
Лыу Т.Н., Строкова О.В. (RU)

(86) PCT/US2019/012427

(87) WO 2019/136309 2019.07.11

(71) Заявитель:  
АЙКОНИК ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.  
(US)

(57) В изобретении предложены антитела, которые специфически связываются с тканевым фактором человека (TF - англ.: tissue factor), конъюгаты антитело к TF-лекарственное средство (ADC - англ.: antibody-drug conjugates) и композиции, содержащие антитела или ADC. В изобретении также предложены способы получения и применения антител или ADC, такие как терапевтические и диагностические способы.



A1

202091631

202091631

A1

## **АНТИТЕЛА К ТКАНЕВОМУ ФАКТОРУ, КОНЬЮГАТЫ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО И СВЯЗАННЫЕ СПОСОБЫ**

### **ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

**[0001]** Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/613545, поданной 4 января 2018; 62/613564, поданной 4 января 2018; 62/646788, поданной 22 марта 2018; 62/713797, поданной 2 августа 2018, и 62/713804, поданной 2 августа 2018, содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

### **ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

**[0002]** Рассматриваемая в данный момент заявка содержит перечень последовательностей, который был подан через EFS-Web и включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная XX.XX.20XX, называется XXXXXUS\_sequencelisting.txt и имеет размер X,XXX,XXX байт.

### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

**[0003]** Коагуляция крови включает сложный набор процессов, которые приводят к свертыванию крови. Тканевый фактор (TF) играет важную роль в этих процессах коагуляции. TF представляет собой рецептор клеточной поверхности фактора сериновой протеазы VIIa (FVIIa). Комплекс TF / FVIIa катализирует превращение неактивного фактора протеазы X (FX) в активный фактор протеазы Xa (FXa). FXa и его кофактор FVa образуют комплекс протромбиназы, который создает тромбин из протромбина. Тромбин превращает растворимый фибриноген в нерастворимые нити фибрина и катализирует многие другие процессы, связанные с коагуляцией.

**[0004]** TF сверхэкспрессирован на множественных типах солидных опухолей. При раке передача сигналов TF/FVIIa может поддерживать ангиогенез, прогрессирование опухоли и метастазирование. Повышенная экспрессия TF также может вызывать воспаление и/или ангиогенез при многих других заболеваниях, включая влажную возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD) и диабетическую ретинопатию.

### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

**[0005]** В данном документе предложены антитела, которые специфически связываются с тканевым фактором человека (TF), конъюгаты антитело к TF-лекарственное средство и связанные способы.

**[0006]** В одном аспекте в данном документе предложено выделенное антитело человека, которое связывается с внеклеточным доменом тканевого фактора человека (TF), причем антитело связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека.

**[0007]** В некоторых вариантах осуществления (1) выделенное антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности,

представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0008]** В некоторых вариантах осуществления (1) выделенное антитело ингибирует образование тромбина человека в меньшей степени, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0009]** В некоторых вариантах осуществления (1) выделенное антитело обеспечивает образование тромбина человека в большей степени, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0010]** В некоторых вариантах осуществления (1) выделенное антитело ингибирует образование тромбина человека в меньшем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0011]** В некоторых вариантах осуществления (1) выделенное антитело обеспечивает образование тромбина человека в большем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0012]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:779; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:780; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID

NO:781; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:782; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:783, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:784.

**[0013]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:872; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:873; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:874; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:875; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:876, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:877.

**[0014]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:878; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:879; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:880; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:881; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:882, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:883.

**[0015]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.

**[0016]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело ингибирует образование тромбина человека в меньшей степени, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.

**[0017]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело обеспечивает образование тромбина человека в большей степени, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.

**[0018]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело ингибирует образование тромбина человека в меньшем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.

**[0019]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело обеспечивает образование тромбина человека в большем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.

**[0020]** В некоторых вариантах осуществления антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления антитело не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем. В некоторых вариантах осуществления антитело не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем. В некоторых вариантах осуществления антитело не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по



**[0027]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N.

**[0028]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N.

**[0029]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

**[0030]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0031]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0032]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID



NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0039]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание выделенного антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N; а мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K68N.

**[0040]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности,



замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N; мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K68N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[0041]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF мыши. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF кролика. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF свиньи.

**[0042]** В некоторых вариантах осуществления антитело уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

**[0043]** В некоторых вариантах осуществления антитело (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

**[0044]** В некоторых вариантах осуществления антитело (a) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

**[0045]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному

значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (с) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[0046]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (а) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (с) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[0047]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (а) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) связывается с TF яванского макака; (с) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (d) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[0048]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) связывается с TF яванского макака; (c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (d) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[0049]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (c) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (d) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (e) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (f) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (g) связывается с TF яванского макака; (h) связывается с TF мыши; и (i) связывается с TF кролика.

**[0050]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (c) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (d) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (f) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (g) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (h) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (i) связывается с TF яванского макака; (j) связывается с TF мыши; и (k) связывается с TF кролика.

**[0051]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (h)

сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (m) связывается с TF яванского макака; (n) связывается с TF мыши; и (o) связывается с TF кролика.

**[0052]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (c) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (d) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (e) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (f) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (g) связывается с TF яванского макака; (h) связывается с TF мыши; (i) связывается с TF кролика; (j) связывается с TF свиньи; и (k) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

**[0053]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (c) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (d) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (f) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (g) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (h) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (i) связывается с TF яванского макака; (j) связывается с TF мыши; (k) связывается с TF кролика; (l) связывается с TF свиньи; и (m) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

**[0054]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (m) связывается с TF яванского макака; (n) связывается с TF мыши; (o) связывается с TF кролика; (p) связывается с TF свиньи; и (q) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

**[0055]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (m) связывается с TF яванского макака; (n) связывается с TF мыши; (o) связывается с TF кролика; (p) связывается с TF свиньи; (q) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (r) связывание выделенного антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (s) связывание выделенного антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание выделенного антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции изолированного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (v) связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID



810 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0056]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (m) связывается с TF яванского макака; (n) связывается с TF мыши; (o) связывается с TF кролика; (p) связывается с TF свиньи; (q) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (r) связывание выделенного антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ. ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (s) связывание выделенного антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K68N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ. ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание выделенного антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (v) связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-



причем связывание выделенного антитела с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 внеклеточного домена TF человека в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0057]** В некоторых вариантах осуществления антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25А, антителом, обозначенным 25А3, антителом, обозначенным 25А5, антителом, обозначенным 25А5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43В, антителом, обозначенным 43В1, антителом, обозначенным 43В7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43Е, или антителом, обозначенным 43Еа.

**[0058]** В некоторых вариантах осуществления антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25А, антителом, обозначенным 25А3, антителом, обозначенным 25А5, антителом, обозначенным 25А5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

**[0059]** В некоторых вариантах осуществления антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 43В, антителом, обозначенным 43В1, антителом, обозначенным 43В7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43Е, или антителом, обозначенным 43Еа.

**[0060]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 25А, антителом, обозначенным 25А3, антителом, обозначенным 25А5, антителом, обозначенным 25А5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43В, антителом, обозначенным 43В1, антителом, обозначенным 43В7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43Е, или антителом, обозначенным 43Еа.

**[0061]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 25А, антителом, обозначенным 25А3, антителом, обозначенным 25А5, антителом, обозначенным 25А5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

**[0062]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 43В, антителом, обозначенным 43В1, антителом, обозначенным 43В7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43Е, или антителом, обозначенным 43Еа.

**[0063]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25А, антитела, обозначенного 25А3, антитела, обозначенного 25А5, антитела, обозначенного 25А5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43В, антитела, обозначенного 43В1, антитела, обозначенного 43В7, антитела, обозначенного





NO:871. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:769 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:770.

**[0070]** В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 25A, антитело, обозначенное 25A3, антитело, обозначенное 25A5, антитело, обозначенное 25A5-Т, антитело, обозначенное 25G, антитело, обозначенное 25G1, антитело, обозначенное 25G9, антитело, обозначенное 43B, антитело, обозначенное 43B1, антитело, обозначенное 43B7, антитело, обозначенное 43D, антитело, обозначенное 43D7, антитело, обозначенное 43D8, антитело, обозначенное 43E, или антитело, обозначенное 43Ea.

**[0071]** В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 25A, антитело, обозначенное 25A3, антитело, обозначенное 25A5, антитело, обозначенное 25A5-Т, антитело, обозначенное 25G, антитело, обозначенное 25G1, или антитело, обозначенное 25G9.

**[0072]** В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 43B, антитело, обозначенное 43B1, антитело, обозначенное 43B7, антитело, обозначенное 43D, антитело, обозначенное 43D7, антитело, обозначенное 43D8, антитело, обозначенное 43E, или антитело, обозначенное 43Ea.

**[0073]** В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

**[0074]** В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, или антитела, обозначенного 25G9.

**[0075]** В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

**[0076]** В другом аспекте в данном документе предложено выделенное антитело, содержащее все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

**[0077]** В некоторых вариантах осуществления антитело является человеческим, гуманизированным или химерным.

**[0078]** В некоторых вариантах осуществления три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGT.

**[0079]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1 или антитела, обозначенного 25G9.





**[0087]** В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 25А, антитело, обозначенное 25А3, антитело, обозначенное 25А5, антитело, обозначенное 25А5-Т, антитело, обозначенное 25G, антитело, обозначенное 25G1, или антитело, обозначенное 25G9.

**[0088]** В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 43В, антитело, обозначенное 43В1, антитело, обозначенное 43В7, антитело, обозначенное 43D, антитело, обозначенное 43D7, антитело, обозначенное 43D8, антитело, обозначенное 43Е, или антитело, обозначенное 43Еа.

**[0089]** В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 25А, антитела, обозначенного 25А3, антитела, обозначенного 25А5, антитела, обозначенного 25А5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43В, антитела, обозначенного 43В1, антитела, обозначенного 43В7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43Е, или антитела, обозначенного 43Еа.

**[0090]** В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 25А, антитела, обозначенного 25А3, антитела, обозначенного 25А5, антитела, обозначенного 25А5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, или антитела, обозначенного 25G9.

**[0091]** В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 43В, антитела, обозначенного 43В1, антитела, обозначенного 43В7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43Е, или антитела, обозначенного 43Еа.

**[0092]** В другом аспекте в данном документе предложено выделенное антитело, которое конкурирует за связывание с TF человека с: антителом, обозначенным 1F, антителом, обозначенным 1G, антителом, обозначенным 29D, антителом, обозначенным 29Е, антителом, обозначенным 39А, или антителом, обозначенным 54Е.

**[0093]** В некоторых вариантах осуществления антитело является человеческим, гуманизированным или химерным.

**[0094]** В некоторых вариантах осуществления, антитело ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

**[0095]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF яванского макака.

**[0096]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[0097]** В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-93 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-98 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено



810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00102]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три определяющие комплементарности области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 1F, антитела, обозначенного 1G, антитела, обозначенного 29D, антитела, обозначенного 29E, антитела, обозначенного 39A, антитела, обозначенного 43Ea или антитела, обозначенного 54E. В некоторых вариантах осуществления три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGT.

**[00103]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 1F. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 1G. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 29D. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 29E. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 39A. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 54E.

**[00104]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:37 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:75 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:76. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:341 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:342. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:379 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:380. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:417 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:418. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:759 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:760.

**[00105]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:773; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:774; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:775; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:776; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:777, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:778. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:785; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:786; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:787; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:788; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:789, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:790. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:791; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:792; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:793; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID



представленную в SEQ ID NO:793; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:794; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:795, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:796.

**[00113]** В другом аспекте, в данном документе предложено выделенное антитело содержащее: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:797; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:798; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:799; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:800; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:801, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:802.

**[00114]** В другом аспекте, в данном документе предложено выделенное антитело содержащее: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:803; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:804; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:805; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:806; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:807, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:808.

**[00115]** В другом аспекте, в данном документе предложено выделенное антитело содержащее: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:872; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:873; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:874; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:875; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:876, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:877.

**[00116]** В другом аспекте, в данном документе предложено выделенное антитело содержащее: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:878; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:879; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:880; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:881; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:882, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:883.

**[00117]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF человека с  $K_D$  меньшей или равной 50 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 1 нМ, 0,5 нМ или 0,1 нМ, что измерено с помощью Octet QK384 или анализа Biacore.

**[00118]** В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело.

**[00119]** В некоторых вариантах осуществления антитело является мультиспецифичным.

**[00120]** В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv, (scFv)<sub>2</sub>, молекулу одноцепочечного антитела, антитело с двумя переменными доменами, антитело с одним переменным доменом, линейное антитело или антитело с V-доменом.

**[00121]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит каркас, необязательно, при этом каркас представляет собой Fc, необязательно Fc человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи класса, выбранного из IgG, IgA, IgD, IgE и IgM. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи класса IgG и подкласса,

выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1.

**[00122]** В некоторых вариантах осуществления Fc содержит одну или более модификаций, при этом одна или более модификаций приводят к увеличению периода полужизни, увеличению антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ), усилению антителозависимого клеточного фагоцитоза (АЗКФ), увеличению комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ), или снижению эффекторной функции по сравнению с Fc без одной или более модификаций.

**[00123]** В другом аспекте в данном документе предложено выделенное антитело, которое конкурирует за связывание с TF человека с любым антителом, указанным выше.

**[00124]** В другом аспекте в данном документе предложено выделенное антитело, которое связывает эпитоп TF человека, связанный любым антителом, указанным выше.

**[00125]** В другом аспекте в данном документе предложен выделенный полинуклеотид или набор полинуклеотидов, кодирующих любое антитело, указанное выше, его  $V_H$ , его  $V_L$ , его легкую цепь, его тяжелую цепь или его антигенсвязывающую часть.

**[00126]** В другом аспекте в данном документе предложен вектор или набор векторов, содержащий полинуклеотид или набор полинуклеотидов, указанных выше.

**[00127]** В другом аспекте в данном документе предложена клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид или набор полинуклеотидов, указанный выше, или вектор, или набор векторов, указанный выше.

**[00128]** В другом аспекте в данном документе предложен способ получения антитела, включающий экспрессию антитела с помощью указанной выше клетки-хозяина и выделение экспрессированного антитела.

**[00129]** В другом аспекте в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая любое указанное выше антитело и фармацевтически приемлемый эксципиент.

**[00130]** В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения или предотвращения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества любого антитела, указанного выше, или фармацевтической композиции, указанной выше.

**[00131]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки.

**[00132]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), диабетическую ретинопатию или рак. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние включает васкулярное воспаление.

**[00133]** В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент находится в составе той же фармацевтической композиции, что и антитело. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент составлен в виде фармацевтической композиции, отличной от фармацевтической композиции антитела. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент вводят до введения антитела. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент вводят после введения антитела. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент вводят одновременно с антителом.

**[00134]** В другом аспекте, в данном документе предложен способ обнаружения TF у субъекта, имеющего или подозреваемого в наличии заболевания или состояния, включающий: (a) получение образца от субъекта; и (b) обнаружение присутствия или уровня TF в образце путем приведения в контакт образца с любым антителом, указанным выше.

**[00135]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки.

**[00136]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), диабетическую ретинопатию или рак. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние включает васкулярное воспаление.

**[00137]** В другом аспекте, в данном документе предложен способ обнаружения TF у субъекта, имеющего или подозреваемого в наличии заболевания или состояния, включающий: (a) введение субъекту любого антитела, указанного выше; и (b) обнаружение присутствия или уровня TF у субъекта.

**[00138]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В

некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки.

**[00139]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), диабетическую ретинопатию или рак. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние включает васкулярное воспаление.

**[00140]** В другом аспекте в данном документе предложен набор, содержащий любое указанное выше антитело или указанную выше фармацевтическую композицию и инструкции по применению.

**[00141]** В другом аспекте в данном документе предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и, необязательно, линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело связывается с внеклеточным доменом тканевого фактора человека (TF) в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FVIIa человека.

**[00142]** В некоторых вариантах осуществления (1) антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00143]** В некоторых вариантах осуществления (1) антитело ингибирует образование тромбина человека в меньшей степени, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00144]** В некоторых вариантах осуществления (1) антитело обеспечивает образование тромбина человека в большем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с

эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00145]** В некоторых вариантах осуществления (1) антитело ингибирует образование тромбина человека в меньшем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00146]** В некоторых вариантах осуществления (1) антитело обеспечивает образование тромбина человека в большем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:821 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:822 и (2) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00147]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:779; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:780; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:781; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:782; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:783, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:784.

**[00148]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:872; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:873; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:874; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:875; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:876, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:877.

**[00149]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:878; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:879; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:880; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:881; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:882, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:883.

- [00150]** В некоторых вариантах осуществления антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.
- [00151]** В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует образование тромбина человека в меньшей степени, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.
- [00152]** В некоторых вариантах осуществления антитело обеспечивает образование тромбина человека в большей степени, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.
- [00153]** В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует образование тромбина человека в меньшем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.
- [00154]** В некоторых вариантах осуществления антитело обеспечивает образование тромбина человека в большем количестве, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:822.
- [00155]** В некоторых вариантах осуществления антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления антитело не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем. В некоторых вариантах осуществления антитело не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем. В некоторых вариантах осуществления антитело не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем. В некоторых вариантах осуществления антитело обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления антитело поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем. В некоторых вариантах осуществления антитело поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем. В некоторых вариантах осуществления антитело сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем.
- [00156]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека. В некоторых вариантах осуществления антитело не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa.
- [00157]** В некоторых вариантах осуществления антитело не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.
- [00158]** В некоторых вариантах осуществления антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

**[00159]** В некоторых вариантах осуществления антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

**[00160]** В некоторых вариантах осуществления антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем, не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем, поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

**[00161]** В некоторых вариантах осуществления, антитело ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

**[00162]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N.

**[00163]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N.

**[00164]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности,



**[00170]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00171]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00172]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00173]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00174]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности

внклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности внклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности внклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание антитела с внклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N; а мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K68N.

**[00175]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом и вариантом внклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с вариантом внклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с вариантом внклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности внклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками внклеточного домена 99-112 последовательности TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внклеточным доменом TF последовательности, представленной

в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-219 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-224 внеклеточного домена последовательности TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF крысы 164-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание антитела с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N; мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K68N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[00176]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF мыши. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF кролика. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF свиньи.

**[00177]** В некоторых вариантах осуществления антитело (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического

контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

**[00178]** В некоторых вариантах осуществления антитело (а) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

**[00179]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (а) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (с) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[00180]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (а) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (с) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N, а мутации в

аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[00181]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) связывается с TF яванского макака; (c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[00182]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) связывается с TF яванского макака; (c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (d) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[00183]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (c) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (d) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (e) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (f) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (g) связывается с TF яванского макака; (h) связывается с TF мыши; и (i) связывается с TF кролика.

**[00184]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает потенциал эндогенного

тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (с) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (d) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (е) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (f) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (g) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (h) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (i) связывается с TF яванского макака; (j) связывается с TF мыши; и (k) связывается с TF кролика.

**[00185]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (с) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (е) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (m) связывается с TF яванского макака; (n) связывается с TF мыши; и (o) связывается с TF кролика.

**[00186]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (с) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (d) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (е) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (f) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (g) связывается с TF яванского макака; (h) связывается с TF мыши; (i) связывается с TF кролика; и (j) связывается с TF свиньи.

**[00187]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (с) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (d) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (е) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (f) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (g) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (h) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (i) связывается с TF яванского макака; (j) связывается с TF мыши; (k) связывается с TF кролика; и (l) связывается с TF свиньи.

**[00188]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (m) связывается с TF яванского макака; (n) связывается с TF мыши; (o) связывается с TF кролика; и (p) связывается с TF свиньи.

**[00189]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (m) связывается с TF яванского макака; (n) связывается с TF мыши; (o) связывается с TF кролика; (p) связывается с TF свиньи; (q) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (r) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (s) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между



определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (aa) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (bb) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00190]** В некоторых вариантах осуществления антитело: (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (m) связывается с TF яванского макака; (n) связывается с TF мыши; (o) связывается с TF кролика; (p) связывается с TF свиньи (q) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (r) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K68N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (s) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутации N171H и T197K последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 810, что определено по медианному



контроля в анализе окрашивания живых клеток; (aa) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (bb) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности внеклеточного домена TF человека, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00191]** В некоторых вариантах осуществления антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A3, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

**[00192]** В некоторых вариантах осуществления антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A3, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

**[00193]** В некоторых вариантах осуществления антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

**[00194]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A3, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

**[00195]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A3, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

**[00196]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом,





содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:800; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:801, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:802.

**[00203]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:763 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:764. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:868 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:869. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:870 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:871. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:769 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:770.

**[00204]** В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 25A, антитело, обозначенное 25A3, антитело, обозначенное 25A5, антитело, обозначенное 25A5-Т, антитело, обозначенное 25G, антитело, обозначенное 25G1, антитело, обозначенное 25G9, антитело, обозначенное 43В, антитело, обозначенное 43В1, антитело, обозначенное 43В7, антитело, обозначенное 43D, антитело, обозначенное 43D7, антитело, обозначенное 43D8, антитело, обозначенное 43Е, или антитело, обозначенное 43Еа. В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 25A, антитело, обозначенное 25A3, антитело, обозначенное 25A5, антитело, обозначенное 25A5-Т, антитело, обозначенное 25G, антитело, обозначенное 25G1, или антитело, обозначенное 25G9. В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 43В, антитело, обозначенное 43В1, антитело, обозначенное 43В7, антитело, обозначенное 43D, антитело, обозначенное 43D7, антитело, обозначенное 43D8, антитело, обозначенное 43Е, или антитело, обозначенное 43Еа.

**[00205]** В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43В, антитела, обозначенного 43В1, антитела, обозначенного 43В7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43Е, или антитела, обозначенного 43Еа. В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, или антитела, обозначенного 25G9. В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 43В, антитела, обозначенного 43В1, антитела, обозначенного 43В7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43Е, или антитела, обозначенного 43Еа.

**[00206]** В другом аспекте в данном документе предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, при этом антитело конкурирует за связывание с TF человека с: антителом, обозначенным 1F, антителом, обозначенным 1G, антителом, обозначенным 29D, антителом, обозначенным 29E, антителом, обозначенным 39A, или антителом, обозначенным 54E.

**[00207]** В некоторых вариантах осуществления, антитело ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

**[00208]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF яванского макака.



замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ. ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-112 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-85 и 92-112 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализ окраски живых клеток.

**[00215]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 1F, антитела, обозначенного 1G, антитела, обозначенного 29D, антитела, обозначенного 29E, антитела, обозначенного 39A, антитела, обозначенного 43Ea или антитела, обозначенного 54E. В некоторых вариантах осуществления три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGT.

**[00216]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 1F. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 1G. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 29D. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 29E. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 39A. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 54E.

**[00217]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:37 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:75 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:76. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:341 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:342. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:379 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:380. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:417 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:418. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:759 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:760.

**[00218]** В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:773; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:774; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:775; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID

NO:776; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:777, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:778. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:785; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:786; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:787; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:788; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:789, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:790. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:791; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:792; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:793; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:794; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:795, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:796. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:803; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:804; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:805; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:806; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:807, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:808.

**[00219]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:761 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:762. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:765 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:766. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:767 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:768. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:771 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:772.

**[00220]** В некоторых вариантах осуществления антитело включает: антитело, обозначенное 1F, антитело, обозначенное 1G, антитело, обозначенное 29D, антитело, обозначенное 29E, антитело, обозначенное 39A, или антитело, обозначенное 54E. В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из: антитела, обозначенного 1F, антитела, обозначенного 1G, антитела, обозначенного 29D, антитела, обозначенного 29E, антитела, обозначенного 39A, или антитела, обозначенного 54E.

**[00221]** В другом аспекте, в данном документе предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:773; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:774; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:775; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:776; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:777, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:778.

**[00222]** В другом аспекте, в данном документе предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем



CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:873; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:874; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:875; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:876, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:877.

**[00228]** В другом аспекте, в данном документе предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:878; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:879; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:880; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:881; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:882, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:883.

**[00229]** В некоторых вариантах осуществления антитело является человеческим, гуманизированным или химерным.

**[00230]** В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с TF человека с  $K_D$  меньшей или равной 50 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 1 нМ, 0,5 нМ или 0,1 нМ, что измерено с помощью Octet QK384 или анализа Biacore.

**[00231]** В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело.

**[00232]** В некоторых вариантах осуществления антитело является мультиспецифичным.

**[00233]** В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv, (scFv)<sub>2</sub>, молекулу одноцепочечного антитела, антитело с двумя переменными доменами, антитело с одним переменным доменом, линейное антитело или антитело с V-доменом.

**[00234]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит каркас, необязательно, при этом каркас представляет собой Fc, необязательно Fc человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи класса, выбранного из IgG, IgA, IgD, IgE и IgM. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи класса IgG и подкласса, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1. В некоторых вариантах осуществления Fc содержит одну или более модификаций, при этом одна или более модификаций приводят к увеличению периода полужизни, увеличению антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ), усилению антителозависимого клеточного фагоцитоза (АЗКФ), увеличению комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ), или снижению эффекторной функции по сравнению с Fc без одной или более модификаций.

**[00235]** В другом аспекте в данном документе предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело против тканевого фактора человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело конкурирует за связывание с TF человека с любым антителом, указанным выше.

**[00236]** В другом аспекте в данном документе предложен конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело против тканевого фактора человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело связывает эпитоп TF человека, связанный любым антителом, указанным выше.

**[00237]** В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент включает антиангиогенный агент, проапоптотический агент, антимиотический агент, антикиназный агент, алкилирующий агент, гормон, агонист гормона, антагонист гормона, хемокин, лекарственное средство, пролекарство, токсин, фермент, антиметаболит, антибиотик, алкалоид или радиоактивный изотоп. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент включает, по меньшей мере, одно из: калихеамицин, камптотецин, карбоплатин, иринотекан, SN-38, карбоплатин, камптотекан, циклофосфамид, цитарабин, дакарбазин, доцетаксел, дактиномицин, даунорубицин, доксорубицин, эдоксорубицин, от доксорубицина, от доксорубицина, майтансиноид, аналог майтансиноида, пирролобензодиазепин, таксонид, дуокармицин, доластатин и ауристин.

**[00238]** В некоторых вариантах осуществления линкер включает лабильный линкер, кислотолабильный линкер, фотолабильный линкер, заряженный линкер, дисульфидсодержащий линкер, чувствительный к пептидазе линкер,  $\beta$ -глокуронидный линкер, диметилловый линкер, тиоэфирный линкер или гидрофильный линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой нерасщепляемый линкер.

**[00239]** В другом аспекте в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая любой указанное выше конъюгат антитело-лекарственное средство и фармацевтически приемлемый эксципиент.

**[00240]** В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения или предотвращения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества любого конъюгата антитело-лекарственное средство, указанного выше, или фармацевтической композиции, указанной выше.

**[00241]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки.

**[00242]** В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент находится в составе той же фармацевтической композиции, что и конъюгат антитело-лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент составлен в виде фармацевтической композиции, отличной от фармацевтической композиции конъюгата антитело-лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент вводят до введения конъюгата антитело-лекарственное средство. В

некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент вводят после введения конъюгата антитело-лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент вводят одновременно с конъюгатом антитело-лекарственное средство.

**[00243]** В другом аспекте, в данном документе предложен способ обнаружения TF у субъекта, имеющего или подозреваемого в наличии заболевания или состояния, включающий: (а) введение субъекту любого конъюгата антитело-лекарственное средство, указанного выше; и (b) обнаружение присутствия или уровня TF у субъекта.

**[00244]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки.

**[00245]** В другом аспекте в данном документе предложен набор, содержащий любой указанный выше конъюгат антитело-лекарственное средство или указанную выше фармацевтическую композицию и инструкции по применению.

## **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

**[00246]** Эти и другие особенности, аспекты и преимущества данного изобретения станут более понятными с учетом следующего описания и прилагаемых графических материалов, на которых:

**[00247]** На **Фиг. 1А и 1В** показано связывание антител к TF с TF-позитивными клетками человека. На **Фиг. 1А** показана медианная интенсивность флуоресценции (MFI) антитела, связанного с клетками НСТ-116, в зависимости от концентраций антител из групп 1, 25 и 29 и  $EC_{50}$  клеток, подлежащих регистрации. На **Фиг. 1В** показана медианная интенсивность флуоресценции антитела, связанного с клетками НСТ-116, в зависимости от концентраций антител из групп 39, 43 и 54 и  $EC_{50}$  клеток, подлежащих регистрации. Изотипический контроль на **Фиг. 1В** относится к обеим **Фиг. 1А и 1В**.

**[00248]** На **Фиг. 2А и 2В** показано связывание антител к TF с TF-позитивными клетками мыши. На **Фиг. 2А** показана медианная интенсивность флуоресценции (MFI) антитела, связанного с клетками СНО, рекомбинантно экспрессирующими TF мыши (СНО-mTF), в зависимости от концентраций антител из групп 1, 25 и 29 и  $EC_{50}$  клеток, подлежащих регистрации. На **Фиг. 2В** показана медианная интенсивность флуоресценции антитела, связанного с клетками СНО-mTF, в зависимости от концентраций антител из групп 39, 43 и 54 и  $EC_{50}$  клеток, подлежащих регистрации. Изотипический контроль на **Фиг. 2В** относится к обеим **Фиг. 2А и 2В**.

**[00249]** На Фиг. 3А и 3В показано образование тромбина в присутствии антитела к TF. На Фиг. 3А показан пик Па/образование тромбина (% пика Па), измеренный с помощью анализа образования тромбина (TGA) без инкубации с антителом перед добавлением кальция и субстрата тромбина в присутствии титров антител к TF из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54. На Фиг. 3В показан пик Па/образование тромбина (% пика Па), измеренный с помощью анализа образования тромбина (TGA) с 10-минутной инкубацией с антителом перед добавлением кальция и субстрата тромбина в присутствии титров антител к TF из группы 1, 25, 29, 39, 43 и 54.

**[00250]** На Фиг. 4А и 4В показано превращение FXa в присутствии антитела к TF. На Фиг. 4А показан процент превращения FXa (% FXa) под действием TF:FVIIa в клетках MDA-MB-231 в присутствии титров антител к TF из групп 1, 25 и 29. На Фиг. 4В показан процент превращения FXa (% FXa) под действием TF:FVIIa в клетках MDA-MB-231 в присутствии титров антител к TF из групп 39, 43 и 54. % превращения FXa при указанной концентрации рассчитывается относительно к реакции превращения FXa без антител. Изотипический контроль на Фиг. 4В относится к обеим Фиг. 4А и 4В.

**[00251]** На Фиг. 5А и 5В показано связывание FVIIa в присутствии антитела к TF. На Фиг. 5А показан процент связывания FVIIa (% FVIIa) в TF-позитивных клетках MDA-MB-231 в присутствии титров антител к TF из групп 1, 25 и 29. На Фиг. 5В показан процент связывания FVIIa (% FVIIa) в клетках MDA-MB-231 в присутствии титров антител к TF из групп 39, 43 и 54. % связывания FVIIa при указанной концентрации рассчитывается по отношению к связыванию с FVIIa без антител. Изотипический контроль на Фиг. 5В относится к обеим Фиг. 5А и 5В.

**[00252]** На Фиг. 6А, 6В, 6С и 6Д показана FVIIa-зависимая передачу сигналов TF в присутствии антитела к TF. На Фиг. 6А показана концентрация IL8 (конц. IL8) в клетках MDA-MB-231 в присутствии титров антител к TF из групп 1, 25 и 29. На Фиг. 6В показана концентрацию IL8 (конц. IL8) в клетках MDA-MB-231 в присутствии титров антител к TF из групп 39, 43 и 54. Контроль на Фиг. 6В относится к обеим Фиг. 6А и 6В. На Фиг. 6С показана концентрация GM-CSF (конц. GM-CSF) в клетках MDA-MB-231 в присутствии титров антител к TF из групп 1, 25 и 29. На Фиг. 6Д показана концентрацию GM-CSF (конц. GM-CSF) в клетках MDA-MB-231 в присутствии титров антител к TF из групп 39, 43 и 54. Контроль на Фиг. 6Д относится к обеим Фиг. 6С и 6Д.

**[00253]** На Фиг. 7А и 7В показана интернализация антитела к TF TF-позитивными клетками. На Фиг. 7А показана жизнеспособность TF-позитивных культур клеток A431 после добавления антитела к TF из групп 1, 25 и 29 и вторичного антитела к Fc человека, конъюгированного с монометиладельстатином F (MMAF). На Фиг. 7В показана жизнеспособность TF-позитивных культур клеток A431 после добавления антитела к TF из групп 39, 43 и 54 и вторичного антитела к Fc человека, конъюгированного с монометиладельстатином F (MMAF). Изотипический контроль на Фиг. 7В относится к обеим Фиг. 7А и 7В.

**[00254]** На Фиг. 8А и 8В показано образование тромбина в присутствии антитела к TF. На Фиг. 8А показан пик Па/образование тромбина (% пика Па), измеренный с помощью анализа образования тромбина (TGA) без инкубации с антителом перед добавлением кальция и субстрата тромбина в присутствии титров антител к TF из групп 25, 39, 43 и антитела к TF M1593. На Фиг. 8В показан пик Па/образование тромбина (% пика Па), измеренный с помощью анализа образования тромбина (TGA) с 10-минутной инкубацией с антителом перед добавлением кальция и субстрата тромбина в присутствии титров антител к TF из группы 25, 39, 43 и антитела к TF M1593.

**[00255]** На **Фиг. 9А и 9В** представлена гибель клеток, индуцированная ADC к TF, в TF-позитивных клетках. На **Фиг. 9А** показана жизнеспособность TF-позитивных клеток A431 после 3 суток инкубации с титром антител к TF, конъюгированных с MC-vc-PAB-MMAE (DAR = 3-4). На **Фиг. 9В** показана жизнеспособность TF-позитивных клеток HPAF-II после 4 суток инкубации с титром антител к TF, конъюгированных с MC-vc-PAB-MMAE (DAR = 3-4).

**[00256]** На **Фиг. 10А и 10В** показано влияние ADC к TF на размер опухоли в моделях ксенотрансплантата. На **Фиг. 10А** показана эффективность ADC к TF в модели ксенотрансплантата A431. На **Фиг. 10В** показана эффективность ADC к TF в модели ксенотрансплантата HPAF-II. Стрелки указывают лечение ADC или носителем (PBS) в дозе 5 мг/кг один раз в неделю в течение 3 недель.

**[00257]** На **Фиг. 11** показано влияние ADC к TF на размер опухоли на модели ксенотрансплантата, полученной от пациента с раком головы и шеи. Стрелки указывают лечение ADC к TF или контрольных ADC IgG1 в дозе 5 мг/кг один раз в неделю в течение 2 недель.

**[00258]** На **Фиг. 12А и 12В** показано связывание антител к TF с TF-позитивными раковыми клетками человека. На **Фиг. 12А** показана медианная интенсивность флуоресценции (MFI) антитела, связанного с клетками A431, в зависимости от концентраций антител из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54. Приведены  $EC_{50}$  клеток и их 95 % доверительные интервалы. На **Фиг. 12В** показана медианная интенсивность флуоресценции антитела, связанного с клетками MDA-MB-231, в зависимости от концентраций антител из групп 25, 29, 39 и 43. Приведены  $EC_{50}$  клеток и их 95 % доверительные интервалы.

**[00259]** На **Фиг. 13А, 13В и 13С** показано образование тромбина в присутствии антитела к TF. На **Фиг. 13А** показаны кривые образования тромбина в отсутствие или в присутствии 100 нМ антител к TF из групп 1, 25 и 29 и ранее созданных антител к TF TF-011, 5G9 и 10H10 (образцы на планшете 1 таблицы 44). На **Фиг. 13В** показаны кривые образования тромбина в отсутствие или в присутствии 100 нМ антител к TF из групп 39, 43 и 54 (образцы на планшете 2 таблицы 44). На **Фиг. 13С** показана пиковая концентрация тромбина в отсутствие или в присутствии титров антител к TF. Показано среднее значение трехкратного набора данных. Стандартное отклонение среднего значения указано в Таблице 44.

**[00260]** На **Фиг. 14А и 14В** показано TF:FVIIa-зависимое превращение FXa и связывание FVII в присутствии антител к TF TF-011, 5G9 и 10H10. На **Фиг. 14А** показано TF: FVIIa-зависимое превращение FX в FXa на поверхности клеток MDA-MB-231 в отсутствие или в присутствии титров антител к TF TF-011, 5G9 и 10H10. На **Фиг. 14В** показано связывание FVII в отсутствие или в присутствии титров антител к TF TF-011, 5G9 и 10H10 после предварительной инкубации клеток MDA-MB-231 с антителами к TF. Для антител, которые конкурировали с FVII указывается  $IC_{50}$  не менее 25 %.

**[00261]** На **Фиг. 15А и 15В** показан процент связывания (% связывания) конъюгированного с A488 антитела к TF 25A3 с клетками MDA-MB-231 после предварительной инкубации клеток с титром немеченых конкурентных антител. На **Фиг. 15А** показан процент связывания 25A3 после предварительной инкубации с немечеными конкурентными антителами из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54. На **Фиг. 15В** показан процент связывания 25A3 после предварительной инкубации с немечеными конкурентными антителами TF-011, 5G9 и 10H10. Приведены значение  $IC_{50}$  антител, которые конкурируют с 25A3.

**[00262]** На **Фиг. 16А и 16В** показан процент связывания (% связывания) конъюгированного с A488 антитела к TF 43D7 с клетками MDA-MB-231 после предварительной инкубации клеток с титром немеченых конкурентных антител. На **Фиг. 16А** показан процент связывания 43D7 после предварительной

инкубации с немечеными конкурентными антителами из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54. **На Фиг. 16В** показан процент связывания 43D7 после предварительной инкубации с немечеными конкурентными антителами TF-011, 5G9 и 10H10. Приведены значение  $IC_{50}$  антител, которые конкурируют с 43D7.

**[00263]** **На Фиг. 17А и 17В** показан процент связывания (% связывания) конъюгированного с А488 антитела к TF 39А с клетками MDA-MB-231 после предварительной инкубации клеток с титром немеченых конкурентных антител. **На Фиг. 17А** показан процент связывания 39А после предварительной инкубации с немечеными конкурентными антителами из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54. **На Фиг. 17В** показан процент связывания 39А после предварительной инкубации с немечеными конкурентными антителами TF-011, 5G9 и 10H10. Приведены значение  $IC_{50}$  антител, которые конкурируют с 39А.

**[00264]** **На Фиг. 18А, 18В и 18С** показана интернализация антител к TF, измеренная с помощью анализа жизнеспособности клеток и анализа интернализации. **На Фиг. 18А** показана жизнеспособность TF-позитивных культур клеток А431 через трое суток после титрования антителами к TF. **На Фиг. 18В** показана жизнеспособность TF-позитивных культур клеток А431 через трое суток после титрования антител к TF в комплексе с Fab-фрагментом к Fc человека, конъюгированному с монометилауристатином F (Fab:MMAF). Приведен  $IC_{50}$  комплексов Fab:MMAF антитела к TF. **На Фиг. 18С** показана интернализация антител к TF, конъюгированных с А488. Указан процент интернализации конъюгированных с А488 антител к TF через 4 часа.

**[00265]** **На Фиг. 19А, 19В и 19С** показано связывание антител к TF и ADC с TF-позитивными клетками человека HCT-116. **На Фиг. 19А** показано связывание антител к TF клетками HCT-116. **На Фиг. 19В** показано связывание ADC к TF клетками HCT-116. **На Фиг. 19С** приведены  $EC_{50}$  клеток и их 95 % доверительные интервалы.

**[00266]** **На Фиг. 20А, 20В и 20С** представлена жизнеспособность клеток А431 после титрования ADC к TF. **На Фиг. 20А** показана жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF при непрерывной 72-часовой инкубации. **На Фиг. 20В** показана жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF с 4-часовой инкубацией с последующим удалением избытка ADC и культивированием в течение еще 68 часов. **На Фиг. 20С** перечислены значения  $IC_{50}$  ADC, подлежащие регистрации.

**[00267]** **На Фиг. 21А, 21В и 21С** показано влияние FVIIa на эффективность ADC к TF *in vitro*. **На Фиг. 21А** показана жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF с 4-часовой инкубацией с последующим удалением избытка ADC и культивированием в течение еще 68 часов в отсутствие FVIIa. **На Фиг. 21В** показана жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF с 4-часовой инкубацией с последующим удалением избытка ADC и культивированием в течение еще 68 часов в присутствии FVIIa. **На Фиг. 21С** перечислены значения  $IC_{50}$ , подлежащие регистрации.

**[00268]** **На Фиг. 22А, 22В, 22С, 22D и 22Е** показана жизнеспособность дополнительных линий раковых клеток после титрования ADC к TF. **На Фиг. 22А** показано количество копий TF в различных линиях клеток с антителом к TF 5G9. Также представлены стандартная ошибка среднего и количество измерений (n). **На Фиг. 22В** показана жизнеспособность клеток HCT-116 после 72 часов культивирования в отсутствие или в присутствии титров ADC к TF MMAE. **На Фиг. 22С** показана жизнеспособность клеток CHO после 72 ч культивирования в отсутствие или в присутствии титров ADC к TF MMAE. **На Фиг. 22D** показана жизнеспособность клеток MDA-MB-231 после 5 суток культивирования в отсутствие или в присутствии титров ADC к TF MMAE. **На Фиг. 22Е** показана жизнеспособность клеток HPAF-II после 5 суток культивирования в отсутствие или в присутствии титров ADC к TF MMAE.

**[00269]** На Фиг. 23А и 23В показано окрашивание сети микротрубочек после обработки ADC к TF MMAE 25A3 (25A3-vc-MMAE) или изотипическим контролем ADC MMAE (изотип контр.-vc-MMAE). На Фиг. 23А показано окрашивание сети микротрубочек клеток A431 после лечения. На Фиг. 23В показано окрашивание сети микротрубочек клеток HPAF-II после обработки. Шкала масштаба, 10 мкм.

**[00270]** На Фиг. 24А и 24В показана экспрессия TF после обработки цитокинами и влияния ADC к TF на жизнеспособность обработанных цитокинами эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC). На Фиг. 24А показано количество копий поверхностного TF на HUVEC, обработанного коктейлем воспалительных цитокинов или без него в течение 3, 6 или 20 часов до анализа. На Фиг. 24В показана жизнеспособность клеток HUVEC, обработанных воспалительными цитокинами, после 4 суток культивирования в присутствии титров ADC к TF или изотипических контрольных MMAE.

**[00271]** На Фиг. 25А, 25В и 25С показано количественное определение блокировки G<sub>2</sub>/M в клетках HUVECs или HCT-116, обработанных в течение 24 ч титром ADC к TF. На Фиг. 25А показан процент pH3-позитивных клеток (% pH3) с титром ADC к TF HUVEC в отсутствие воспалительных цитокинов. На Фиг. 25В показан процент pH3-позитивных клеток (% pH3) с титром ADC к TF HUVEC в присутствии воспалительных цитокинов. На Фиг. 25С показан процент pH3-позитивных клеток (% pH3) с титром ADC к TF клеток HCT-116.

**[00272]** На Фиг. 26А и 26В показано процентное содержание pH3-позитивных клеток HCT-116, проанализированных с помощью проточной цитометрии с обработкой ADC к TF или без нее. На Фиг. 26А показан точечный график зависимости pH3 от содержания ДНК после обработки 10 нМ Isotype-vc-MMAE. На Фиг. 26В показан точечный график зависимости pH3 от содержания ДНК после обработки 10 нМ 25A-vc-MMAE.

**[00273]** На Фиг. 27А и 27В показана чувствительность клеток HUVEC и HCT-116 к MMAE. На Фиг. 27А показан процент pH3-позитивных HUVEC (% pH3) в отсутствие или в присутствии 24-часовой обработки MMAE. На Фиг. 27В показан процент pH3-позитивных клеток HCT-116 (% pH3) в отсутствие или в присутствии 24-часовой обработки MMAE.

**[00274]** На Фиг. 28 показан анализ фосфорилирования Erk с помощью вестерн-блоттинга с антителом к фосфо-Erk1/2 и антителом к Erk1/2. Представлены значения индукции pErk.

**[00275]** На Фиг. 29А, 29В и 29С показана репортерная люминесценция антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) после 6 ч инкубации репортерной линии клеток Jurkat с TF-позитивными клетками A431. На Фиг. 29А показана люминесценция репортера АЗКЦ в отсутствие или в присутствии титров антител к TF. На Фиг. 29В показана люминесценция репортера АЗКЦ в отсутствие или в присутствии титров ADC к TF. На Фиг. 29С приведены значения EC<sub>50</sub> люминесценции репортера АЗКЦ для каждого антитела или ADC к TF.

**[00276]** На Фиг. 30А и 30В представлена эффективность *in vivo* ADC к TF в модели ксенотрансплантата HPAF-II. На Фиг. 30А показан средний объем опухоли после еженедельного лечения ADC к TF в дозе 5 мг/кг в течение 3 недель. На Фиг. 30В показан средний объем опухоли после еженедельного лечения ADC к TF в дозе 2 мг/кг в течение 2 недель. Перечислены средние объемы опухоли (Среднее) и процент ингибирования роста опухоли (TGI) на 21 сутки. Также приведены *P*-значения для сравнения среднего объема опухоли между каждым ADC и контролем-носителем. Кроме того, также

указано количество животных с частичной регрессией (ЧР), полной регрессией (ПР) и выжившими без опухолей (ВБО) в конце исследования (59 сутки для **Фиг. 30А** и 39 сутки для **Фиг. 30В**).

**[00277]** На **Фиг. 31А** и **31В** представлена эффективность *in vivo* ADC к TF в модели ксенотрансплантата MDA-MB-231. На **Фиг. 31А** показан средний объем опухоли после еженедельного лечения ADC к TF в дозе 4 мг/кг в течение 2 недель. На **Фиг. 31В** показан средний объем опухоли после еженедельного лечения ADC к TF в дозе 2 мг/кг в течение 2 недель. Приведены средний объем опухоли и ингибирование роста опухоли на 25 сутки (**Фиг. 31А**) и 27 сутки (**Фиг. 31В**). Также приведены *P*-значения для сравнения среднего объема опухоли между каждым ADC и контролем-носителем. Кроме того, также указано количество животных с частичной регрессией (ЧР), полной регрессией (ПР) и выжившими без опухолей (ВБО) в конце исследования (49 сутки для **Фиг. 31А** и 41 сутки для **Фиг. 31В**).

**[00278]** На **Фиг. 32** показан средний объем опухоли после еженедельной обработки неконъюгированными антителами к TF в дозе 10 мг/кг в течение 2 недель в модели ксенотрансплантата HPAF-II. Приведен средний объем опухоли на 15 сутки.

**[00279]** На **Фиг. 33А, 33В** и **33С** представлена эффективность *in vivo* ADC к TF в моделях ксенотрансплантата, полученного от пациента (PDX). На **Фиг. 33А** показан средний объем опухоли в модели PDX карциномы головы и шеи после лечения ADC к TF. На **Фиг. 33В** показан средний объем опухоли в модели PDX карциномы яичника после лечения ADC к TF. На **Фиг. 33С** показан средний объем опухоли в модели PDX аденокарциномы желудка после лечения ADC к TF. Приведены средний объем опухоли и ингибирование роста опухоли на 44 сутки (**Фиг. 33А**), 15 сутки (**Фиг. 33В**) и 25 сутки (**Фиг. 33С**). Также приведены *P*-значения для сравнения среднего объема опухоли между каждым ADC и изотипическим контролем. Кроме того, также указано количество частичных респондеров (ЧР), полных респондеров (ПР) и выжившими без опухолей (ВБО) в конце исследования (60 сутки для **Фиг. 33А** и 46 сутки для **Фиг. 33В-С**).

**[00280]** На **Фиг. 34А** и **34В** показано изменение размера поражения после введения антитела к TF в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV). На **Фиг. 34А** показано процентное изменение размера поражения с 7 суток (исходный уровень) до 14 суток, измеренное с помощью флуоресцентной ангиографии (FA) после интравитреального введения антител к TF 25G9, 43D8, 1G и 29D соответственно. На **Фиг. 34В** показано процентное изменение размера поражения с 7 суток (исходный уровень) до 28 суток, измеренное с помощью флуоресцентной ангиографии (FA) после интравитреального введения антител к TF 25G9, 43D8, 1G и 29D соответственно.

**[00281]** На **Фиг. 35** показано изменение поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV) с 7 суток (исходный уровень) до 28 суток, измеренное с помощью флуоресцентной ангиографии (FA) после интравитреального введения антител к TF 25G9 при 600 мкг, 2 мг и 4 мг соответственно.

**[00282]** На **Фиг. 36** показано выравнивание Clustal Omega химерных конструкций TF. Последовательности крысы выделены жирным шрифтом. «\* (звездочка)» обозначает положения, которые имеют единственный полностью консервативный остаток. Знак «: (двоеточие)» указывает на сохранение между группами сильно схожих свойств - примерно эквивалентно баллу > 0,5 в матрице сравнения аминокислот по Gonnet 250. Знак «. (период)» указывает на сохранение между группами слабо схожих свойств - примерно эквивалентно оценке = <0,5 и > 0 в матрице сравнения аминокислот по Gonnet 250.

**[00283]** На **Фиг. 37** показано выравнивание Clustal Omega химерных конструкций TF. Последовательности человека выделены жирным шрифтом. «\* (звездочка)» обозначает положения, которые

имеют единственный полностью консервативный остаток. Знак «: (двоеточие)» указывает на сохранение между группами сильно схожих свойств - примерно эквивалентно баллу  $> 0,5$  в матрице сравнения аминокислот по Gonnet 250. Знак «. (точка)» указывает на сохранение между группами слабо схожих свойств - примерно эквивалентно оценке  $= < 0,5$  и  $> 0$  в матрице сравнения аминокислот по Gonnet 250.

**[00284]** На Фиг. 38 показано выравнивание Clustal Omega химерных конструкций TF.

Последовательности крысы выделены жирным шрифтом. «\* (звездочка)» обозначает положения, которые имеют единственный полностью консервативный остаток. Знак «: (двоеточие)» указывает на сохранение между группами сильно схожих свойств - примерно эквивалентно баллу  $> 0,5$  в матрице сравнения аминокислот по Gonnet 250. Знак «. (точка)» указывает на сохранение между группами слабо схожих свойств - примерно эквивалентно оценке  $= < 0,5$  и  $> 0$  в матрице сравнения аминокислот по Gonnet 250.

**[00285]** На Фиг. 39А-Г представлены кривые титрования антител к TF из групп 25 и 43, h5G9 и 10H10 на выбранных конструкциях TF. На Фиг. 39А показаны кривые титрования антител к TF на конструкции TF человека. На Фиг. 39В показаны кривые титрования антител к TF на конструкции TF крысы. На Фиг. 39С показаны кривые титрования антител к TF на химерной конструкции TF человека-крысы hTF\_K68N. На Фиг. 39Д показаны кривые титрования антител к TF на химерной конструкции TF человека-крысы hTF\_K149N. На Фиг. 39Е показаны кривые титрования антител к TF на химерной конструкции TF человека-крысы hTF\_N171H\_T197K. На Фиг. 39Ф показаны кривые титрования антител к TF на химерной конструкции TF крысы-человека r141-194\_h.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

### 1. Определения

**[00286]** Если не указано иное, все термины из области техники, обозначения и другая научная терминология, используемые в данном документе, имеют значения, обычно понятные специалистам в данной области техники. В некоторых случаях термины с общепринятыми значениями определены в данном документе для ясности и/или для облегчения ссылки, и включение таких определений в данный документ не обязательно должно быть истолковано как представляющее различие по сравнению с тем, что обычно понимается в данной области техники. Методики и способы, описанные или упомянутые в данном документе, в целом хорошо понятны и обычно используются специалистами в данной области техники с использованием традиционных методологий, таких как, например, широко используемые методологии молекулярного клонирования, описанные в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 4th ed. (2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. В зависимости от конкретного случая процедуры, включающие использование имеющихся в продаже наборов и реагентов в целом проводятся в соответствии с протоколами и/или состояниями, определенными производителем, если не указано иное.

**[00287]** В контексте данного документа формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно следует иное. Термины «включать», «такой как» и т.п. предназначены для обозначения включения без ограничения, если специально не указано иное.

**[00288]** Используемый в данном документе термин «содержащий» также конкретно включает варианты осуществления «состоящий из» и «состоящий по существу из» перечисленных элементов, если специально не указано иное.

**[00289]** Термин «около» указывает и охватывает указанное значение и диапазон выше и ниже этого значения. В некоторых вариантах осуществления термин «около» означает указанное значение  $\pm 10\%$ ,  $\pm 5\%$  или  $\pm 1\%$ . В определенных вариантах осуществления, где это применимо, термин «около» указывает обозначенное значение (значения)  $\pm$  одно стандартное отклонение этого значения (значений).

**[00290]** Термины «тканевый фактор», «TF», «фактор ткани тромбоцитов», «фактор III», «тромбопластин» и «CD142» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения TF или любых вариантов (например, вариантов сплайсинга и аллельных вариантов), изоформы и видовой гомологи TF, которые естественным образом экспрессируются клетками или которые экспрессируются клетками, трансфицированными геном TF. В некоторых аспектах белок TF представляет собой белок TF, который в естественных условиях экспрессируется приматом (например, обезьяной или человеком), грызуном (например, мышью или крысой), собакой, верблюдом, кошкой, коровой, козой, лошастью, свиньей или овцой. В некоторых аспектах белок TF представляет собой TF человека (hTF; SEQ ID NO:809). В некоторых аспектах белок TF представляет собой TF яванского макака (cTF; SEQ ID NO:813). В некоторых аспектах белок TF представляет собой TF мышцы (mTF; SEQ ID NO:817). В некоторых аспектах белок TF представляет собой TF свиньи (pTF; SEQ ID NO:824). TF представляет собой рецептор клеточной поверхности фактора сериновой протеазы VIIa. Часто он конститутивно экспрессируется определенными клетками, окружающими кровеносные сосуды, и при некоторых заболеваниях.

**[00291]** Термин «конъюгат антитело-лекарственное средство» или «ADC» относится к конъюгату, содержащему антитело, конъюгированное с одним или более цитотоксическими агентами, необязательно через один или более линкеров. Термин «конъюгат антитело-лекарственное средство к TF» или «ADC к TF» относится к конъюгату, содержащему антитело к TF, конъюгированное с одним или более цитотоксическими агентами, необязательно через один или более линкеров.

**[00292]** Термин «цитотоксический агент» в контексте данного описания относится к веществу, которое ингибирует или предотвращает клеточную функцию и/или вызывает гибель или разрушение клеток. Цитотоксический агент может включать антиангиогенный агент, проапоптотический агент, антимиотический агент, антикиназный агент, алкилирующий агент, гормон, агонист гормона, антагонист гормона, хемокин, лекарственное средство, пролекарство, токсин, фермент, антимераболит, антибиотик, алкалоид или радиоактивный изотоп. Иллюстративные цитотоксические агенты включают, по меньшей мере, одно из: калихеамицин, камптотецин, карбоплатин, иринотекан, SN-38, карбоплатин, камптотекан, циклофосфамид, цитарабин, дакарбазин, доцетаксел, дактиномицин, даунорубицин, доксорубицин, эдоксорубицин, от доксорубицина, от доксорубицина, майтансиноид, аналог майтансиноида, пирролобензодиазепин, таксоид, дуокармицин, доластатин, ауристин и их производные.

**[00293]** «Линкер» относится к молекуле, которая связывает одну композицию с другой, например, антитело с агентом. Описанные в данном документе линкеры могут конъюгировать антитело с цитотоксическим агентом. Иллюстративные линкеры включают лабильный линкер, кислотолабильный линкер, фотоллабильный линкер, заряженный линкер, дисульфидсодержащий линкер, чувствительный к пептидазе линкер,  $\beta$ -глюкуронидный линкер, диметилловый линкер, тиоэфирный линкер и гидрофильный линкер. Линкер может быть расщепляемым или нерасщепляемым.

**[00294]** Термин «иммуноглобулин» относится к классу структурно родственных белков, обычно содержащих две пары полипептидных цепей: одну пару легких (L) цепей и одну пару тяжелых (H) цепей. В «интактном иммуноглобулине» все четыре цепи связаны дисульфидными связями. Структура

иммуноглобулинов хорошо изучена. См., например, Paul, *Fundamental Immunology* 7th ed., Ch. 5 (2013) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. Вкратце, каждая тяжелая цепь как правило содержит вариабельную область тяжелой цепи ( $V_H$ ) и константную область тяжелой цепи ( $C_H$ ). Константная область тяжелой цепи как правило содержит три домена, называемые  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  и  $C_{H3}$ . Каждая легкая цепь как правило содержит вариабельную область легкой цепи ( $V_L$ ) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи как правило содержит один домен, называемый  $C_L$ .

**[00295]** Термин «антитело» используется в данном документе в самом широком смысле и включает определенные типы молекул иммуноглобулинов, содержащих один или более антигенсвязывающих доменов, которые специфически связываются с антигеном или эпитопом. Антитело, в частности, включает интактные антитела (например, интактные иммуноглобулины), фрагменты антител и мультиспецифичные антитела.

**[00296]** Термин «альтернативный каркас» относится к молекуле, в которой одна или более областей могут быть диверсифицированы для получения одного или более антигенсвязывающих доменов, которые специфически связываются с антигеном или эпитопом. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывает антиген или эпитоп со специфичностью и аффинностью, аналогичными таковым у антитела. Примеры альтернативных каркасов включают каркасы, полученные из фибронектина (например, аднектины™),  $\beta$ -сэндвичи (например, iMab), липокалин (например, антикалины<sup>®</sup>), EETI-II/AGRP, BPTI/LACI-D1/ITI-D2 (например, домены Kunitz), тиоредоксиновые пептидные аптамеры, белок А (например, аффитела<sup>®</sup>), анкириновые повторы (например, DARPin<sup>®</sup>), гамма-В-кристаллин/убиквитин (например, аффилины), CTLD3 (например, тетранектины), финомеры и (модуль LDLR-A) (например, авимеры). Дополнительная информация об альтернативных каркасах представлена в Binz et al., *Nat. Biotechnol.*, 2005 23:1257-1268; Skerra, *Current Opin. in Biotech.*, 2007 18:295-304 и Silacci et al., *J. Biol. Chem.*, 2014, 289:14392-14398; каждая из которых включена в полном объеме посредством ссылки.

**[00297]** Термин «антигенсвязывающий домен» означает часть антитела, которая способна специфически связываться с антигеном или эпитопом. Одним из примеров антигенсвязывающего домена представляет собой антигенсвязывающий домен, образованный димером  $V_H$ - $V_L$  антитела. Другим примером антигенсвязывающего домена является антигенсвязывающий домен, образованный диверсификацией определенных петель из десятого домена фибронектина типа III аднектина. Антигенсвязывающие домены можно найти в различных источниках, включая антитела и химерные антигенные рецепторы (CAR), например CAR, полученные из антител или фрагментов антител, таких как scFv.

**[00298]** Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» и «целое антитело» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения антитела, имеющего структуру, по существу аналогичную структуре природного антитела, и имеющего тяжелые цепи, которые содержат область Fc. Например, «полноразмерное антитело», когда используется для обозначения молекулы IgG, представляет собой антитело, которое содержит две тяжелые цепи и две легкие цепи.

**[00299]** Термин «область Fc» означает C-концевую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая в природных антителах взаимодействует с рецепторами Fc и некоторыми белками системы комплемента. Структуры областей Fc различных иммуноглобулинов и содержащиеся в них сайты гликозилирования известны в данной области техники. См., Schroeder and Cavacini, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, 125:S41-52,

включенную посредством ссылки в полном объеме. Fc-область может быть природной Fc-областью или Fc-областью, модифицированной, как описано в уровне техники или где-либо еще в данном изобретении.

**[00300]** Области  $V_H$  и  $V_L$  могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности («гипервариабельные области (HVR)»; также называемые «определяющие комплементарность области» (CDR)), чередующиеся с областями, которые более консервативны. Более консервативные области называются каркасными областями (FR). Каждая  $V_H$  и  $V_L$  обычно состоят из трех CDR и четырех FR, расположенных в следующем порядке (от N-конца до C-конца): FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4. CDR участвуют в связывании антигена и влияют на специфичность антигена и аффинность связывания антитела. См, Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th ed. (1991) Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, включенную в данный документе в полном объеме.

**[00301]** «Определяющая комплементарность область (CDR)» относится к одной из трех гипервариабельных областей (H1, H2 или H3) в пределах некаркасной области  $\beta$ -складчатого каркаса  $V_H$  иммуноглобулина (Ig или антитела) или одной из трех гипервариабельных областей (L1, L2 или L3) в пределах некаркасной области  $\beta$ -складчатого каркаса  $V_L$  антитела. CDR представляют собой последовательности вариабельной области, перемежающиеся последовательностями каркасной области. CDR хорошо известны в данной области техники и были определены, например, Kabat, как области наибольшей гипервариабельности в пределах вариабельных (V) доменов антитела. См., Kabat et al., *J Biol Chem*, 1977, 252:6609-6616 и Kabat, *Adv Protein Chem*, 1978, 32:1-75, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. CDR также были структурно определены Chothia как те остатки, которые не являются частью консервативного  $\beta$ -складчатого каркаса и, таким образом, способны принимать разные конформации. См., Chothia and Lesk, *J Mol Biol*, 1987, 196:901-917, включенный в полном объеме посредством ссылки. Обе номенклатуры Kabat и Chothia хорошо известны в данной области техники. AbM, Contact и IMGT также определили CDR. Позиции CDR в пределах вариабельного домена канонического антитела были определены путем сравнения многочисленных структур. См., Morea et al., *Methods*, 2000, 20:267-279 и Al-Lazikani et al., *J Mol Biol*, 1997, 273:927-48, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Поскольку число остатков в пределах гипервариабельной области варьируется для разных антител, дополнительные остатки относительно канонических позиций традиционно нумеруют, приписывая a, b, c и так далее рядом с номером остатка в канонической схеме нумерации вариабельного домена (Al-Lazikani et al., выше). Такая терминология хорошо известна специалистам в данной области техники.

**[00302]** Применяют большое число вариантов разграничения гипервариабельной области, которые включены в данный документ. CDR по Kabat основаны на вариабельности последовательностей и являются наиболее часто используемыми. См., Kabat et al. (1992) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, DIANE Publishing: 2719, включенную посредством ссылки в полном объеме. Chothia, вместо этого, относится к расположению структурных петель (Chothia and Lesk, *supra*). Гипервариабельные области по AbM представляют собой компромиссный вариант между CDR по Кабату, и структурными петлями по Чотиа, и используются в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM. «Контактные» гипервариабельные области основаны на анализе доступных комплексных кристаллических структур. Остатки от каждого из этих гипервариабельных участков отмечены в **Таблице 1**.

**[00303]** Совсем недавно была разработана и получила широкое распространение универсальная система нумерации ImMunoGeneTics (IMGT) Information System™. См., Lefranc et al., *Dev Comp Immunol*, 2003,

27:55-77, включенную посредством ссылки в полном объеме. IMGT представляет собой интегрированную информационную систему, специализирующуюся на иммуноглобулинах (IG), Т-клеточных рецепторах (TR) и главном комплексе гистосовместимости (ГКГС) человека и других позвоночных. CDR IMGT указаны в терминах как аминокислотной последовательности, так и расположения в легкой или тяжелой цепи. Так как «расположение» CDR в структуре переменного домена иммуноглобулина является консервативным среди разных видов и представлено в структурах, называемых петлями, с помощью систем нумерации, которые выравнивают последовательности переменного домена в соответствии со структурными характеристиками, остатки CDR и каркасной области легко определимы. Соответствие между нумерацией Kabat, Chothia и IMGT также хорошо известно в данной области техники (Lefranc et al., выше). Иллюстративная система, представленная в данном документе, объединяет определения CDR по Kabat и Chothia.

Таблица 1

	Иллюстративный (Kabat + Chothia)	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
CDR1 VH	26-35	31-35	26-32	26-35	30-35	27-38
CDR2 VH	50-65	50-65	52a-55	50-58	47-58	56-65
CDR3 VH	95-102	95-102	96-101	95-102	93-101	105-117
CDR1 VL	24-34	24-34	26-32	24-34	30-36	27-38
CDR2 VL	50-56	50-56	50-52	50-56	46-55	56-65
CDR3 VL	89-97	89-97	91-96	89-97	89-96	105-117

**[00304]** Легкая цепь любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из двух типов, называемых каппа ( $\kappa$ ) и лямбда ( $\lambda$ ), на основе последовательности ее константного домена.

**[00305]** Тяжелая цепь любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из пяти различных классов (или изотипов): IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. Эти классы также обозначаются как  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  и  $\mu$  соответственно. Классы IgG и IgA далее делятся на подклассы на основе различий в последовательности и функции. Люди экспрессируют следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2.

**[00306]** Термины «константная область» или «константный домен» относятся к карбокси-концевой части легкой и тяжелой цепи, которая непосредственно не принимает участие в связывании антитела с антигеном, но проявляет различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Эти термины относятся к части молекулы иммуноглобулина, имеющей более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с другой частью иммуноглобулина, переменным доменом, который содержит антигенсвязывающий сайт. Константная область содержит домены C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub> и C<sub>H3</sub> тяжелой цепи и домен C<sub>L</sub> легкой цепи.

**[00307]** «Схема нумерации EU» обычно используется для обозначения остатка в константной области тяжелой цепи антитела (*например*, как сообщается в Kabat et al., выше). Если не указано иное, схема нумерации EU используется для обозначения остатков в константных областях тяжелой цепи антитела, описанных в данном документе.

**[00308]** «Фрагмент антител» содержит часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая или переменная область интактного антитела. Фрагменты антител включают, например, фрагменты Fv, фрагменты Fab, фрагменты F(ab')<sub>2</sub>, фрагменты Fab', фрагменты scFv (sFv) и фрагменты scFv-Fc.

**[00309]** Фрагменты «Fv» содержат нековалентно связанный димер одного переменного домена тяжелой цепи и одного переменного домена легкой цепи.

**[00310]** Фрагменты «Fab» содержат, помимо переменных доменов тяжелой и легкой цепи, константный домен легкой цепи и первый константный домен (C<sub>H1</sub>) тяжелой цепи. Фрагменты Fab можно получить, например, рекомбинантными методами или ферментативным расщеплением папаином полноразмерного антитела.

**[00311]** Фрагменты «F(ab')<sub>2</sub>» содержат два фрагмента Fab, соединенных около шарнирной области дисульфидными связями. Фрагменты F(ab')<sub>2</sub> можно получить, например, рекомбинантными методами или ферментативным расщеплением пепсином интактного антитела. Фрагменты F(ab') можно диссоциировать, например, обработкой β-меркаптоэтанолом.

**[00312]** «Одноцепочечные Fv», или «sFv», или «scFv» фрагменты антитела содержат домен V<sub>H</sub> и домен V<sub>L</sub> в одной полипептидной цепи. V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> обычно связаны пептидным линкером. См., Plückthun A. (1994). Может быть использован любой подходящий линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой (GGGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:823). В некоторых вариантах, n = 1, 2, 3, 4, 5 или 6. См., *Antibodies from Escherichia coli*. In Rosenberg M. & Moore G.P. (Eds.), *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies* vol. 113 (pp. 269-315). Springer-Verlag, New York, включенную посредством ссылки в полном объеме.

**[00313]** Фрагменты «scFv-Fc» содержат scFv, присоединенный к домену Fc. Например, домен Fc может быть присоединен к C-концу scFv. Домен Fc может следовать за V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub>, в зависимости от ориентации переменных доменов в scFv (т.е., V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> и V<sub>L</sub>-V<sub>H</sub>). Может быть использован любой подходящий домен Fc, известный в данной области техники или описанный в данном документе.

**[00314]** Термин «однодоменное антитело» относится к молекуле, в которой один переменный домен антитела специфически связывается с антигеном без присутствия другого переменного домена. Однодоменные антитела и их фрагменты описаны в Arabi Ghahroudi et al., *FEBS Letters*, 1998, 414:521-526 и Muyldermans et al., *Trends in Biochem. Sci.*, 2001, 26:230-245, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Однодоменные антитела также известны как sdAbs или нанотела.

**[00315]** «Мультиспецифичное антитело» представляет собой антитело, которое содержит два или более разных антигенсвязывающих домена, которые вместе специфически связывают два или более разных эпитопов. Два или более разных эпитопа могут быть эпитопами одного и того же антигена (например, одна молекула TF, экспрессируемая клеткой) или на разных антигенах (например, молекула TF и молекула, отличная от TF). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает два разных эпитопа (т.е., «биспецифичное антитело»). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает три разных эпитопа (т.е., «триспецифичное антитело»). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает четыре разных эпитопа (т.е., «четырёхспецифичное антитело»). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает пять разных эпитопа (т.е., «пятиспецифичное антитело»). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает 6, 7, 8 или более различных эпитопов. Каждая специфичность

связывания может иметь любую подходящую валентность. Примеры мультиспецифичных антител представлены в другом месте в данном изобретении.

**[00316]** «Моноспецифичное антитело» представляет собой антитело, которое содержит один или более сайтов связывания, которые специфически связываются с одним эпитопом. Примером моноспецифичного антитела является встречающаяся в природе молекула IgG, которая, будучи двухвалентной (т.е., имеющей два антигенсвязывающих домена), распознает один и тот же эпитоп в каждом из двух антигенсвязывающих доменов. Специфичность связывания может иметь любую подходящую валентность.

**[00317]** Термин «моноклональное антитело» относится к антителу из популяции по существу гомогенных антител. Популяция по существу гомогенных антител включает антитела, которые по существу сходны и связывают один и тот же эпитоп(ы), за исключением вариантов, которые обычно могут возникать во время продукции моноклонального антитела. Такие варианты обычно присутствуют только в незначительных количествах. Моноклональное антитело обычно получают с помощью процесса, который включает выбор одного антитела из множества антител. Например, процесс отбора может представлять собой отбор уникального клона из множества клонов, таких как пул гибридных клонов, фаговых клонов, дрожжевых клонов, бактериальных клонов или других клонов рекомбинантной ДНК. Выбранное антитело можно дополнительно изменить, например, для улучшения аффинности к мишени («созревание аффинности»), для гуманизации антитела, для улучшения его продукции в культуре клеток и/или для снижения его иммуногенности у субъекта.

**[00318]** Термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором фрагмент тяжелой и/или легкой цепи получен из конкретного источника или вида, в то время как часть тяжелой и/или легкой цепи получены из другого источника или вида.

**[00319]** «Гуманизированные» формы не относящихся к человеку видов антител представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина, не принадлежащего к человеческому роду. Гуманизированное антитело обычно представляет собой антитело человека (реципиентное антитело), в котором остатки из одной или более CDR заменены остатками из одной или более CDR нечеловеческого антитела (донорское антитело). Донорским антителом может быть любое подходящее нечеловеческое антитело, такое как мышье, крысиное, кроличье, куриное или нечеловеческое антитело приматов, имеющее желаемую специфичность, аффинность или биологический эффект. В некоторых случаях выбранные остатки каркасной области антитела-реципиента заменяются соответствующими остатками каркасной области донорного антитела. Гуманизированные антитела могут также содержать остатки, которых нет ни в антителе реципиента, ни в антителе донора. Такие модификации могут быть сделаны для дальнейшего уточнения функции антитела. Для получения дополнительной информации, см., Jones et al., *Nature*, 1986, 321:522-525; Riechmann et al., *Nature*, 1988, 332:323-329 и Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 1992, 2:593-596, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

**[00320]** «Антитело человека» представляет собой антитело, которое обладает аминокислотной последовательностью, соответствующей аминокислотной последовательности антитела, продуцируемого человеком или клеткой человека, или полученного из нечеловеческого источника, который использует репертуар человеческих антител или последовательности, кодирующие антитела человека (например, , получены из человеческих источников или созданы *de novo*). Антитела человека конкретно исключают гуманизированные антитела.

**[00321]** «Выделенное антитело» или «выделенная нуклеиновая кислота» представляет собой антитело или нуклеиновую кислоту, которые были выделены и/или восстановлены из компонента его естественного окружения. Компоненты природной среды могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые материалы. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело очищают до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, например, с использованием секвенатора с вращающимся стаканом. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело очищают до гомогенности с помощью гель-электрофореза (например, SDS-PAGE) в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с обнаружением с помощью окрашивания кумасси синим или серебром. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело может включать антитело *in situ* в рекомбинантных клетках, поскольку по меньшей мере один компонент естественной среды антитела будет отсутствовать. В некоторых аспектах выделенное антитело или выделенную нуклеиновую кислоту получают, по меньшей мере, с помощью одной стадии очистки. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или выделенную нуклеиновую кислоту очищают по меньшей мере до 80 %, 85 %, 90 %, 95 % или 99 % по массе. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или выделенную нуклеиновую кислоту очищают по меньшей мере до 80 %, 85 %, 90 %, 95 % или 99 % по объему. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или выделенная нуклеиновая кислота предоставляется в виде раствора, содержащего от по меньшей мере 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % до 100 % антитела или нуклеиновой кислоты по массе. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или выделенная нуклеиновая кислота предоставляется в виде раствора, содержащего от по меньшей мере 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % до 100 % антитела или нуклеиновой кислоты по объему.

**[00322]** «Аффинность» относится к силе суммарного количества нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антителом) и ее связывающим партнером (например, антигеном или эпитопом). Если не указано иное, в контексте данного документа «аффинность» относится к действительной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие в соотношении 1:1 между членами связывающей пары (например, антителом и антигеном или эпитопом). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y может быть представлена константой равновесия при диссоциации ( $K_D$ ). Кинетические компоненты, которые вносят вклад в константу равновесия диссоциации, более подробно описаны ниже. Аффинность можно измерить обычными методами, известными в данной области техники, в том числе описанными в данном документе, такими как технология поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, BIACORE<sup>®</sup>) или биослойная интерферометрия (например, FORTEBIO<sup>®</sup>).

**[00323]** Что касается связывания антитела с молекулой-мишенью, термины «связывает», «специфическое связывание», «специфично связывается с», «специфично для», «избирательно связывается» и «селективно в отношении» конкретного антигена (например, полипептида-мишени) или эпитопа на конкретном антигене означает связывание, которое заметно отличается от неспецифического или неселективного взаимодействия (например, с молекулой, не являющейся мишенью). Специфическое связывание можно измерить, например, путем измерения связывания с молекулой-мишенью и сравнения его со связыванием с молекулой, не являющейся мишенью. Специфическое связывание также может быть определено путем конкуренции с контрольной молекулой, которая имитирует эпитоп, распознаваемый на молекуле-мишени. В этом случае специфическое связывание указывается, если связывание антитела с молекулой-мишенью конкурентно ингибируется контрольной молекулой. В некоторых аспектах

аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 50 % от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 40% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 30% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 20% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 10% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 1% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 0,1% от аффинности к ТФ.

**[00324]** Термин « $k_d$ » ( $\text{сек}^{-1}$ ), используемый в данном документе, относится к константе скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Это значение также называют значение  $k_{off}$ .

**[00325]** Термин « $k_a$ » ( $\text{M}^{-1} \times \text{сек}^{-1}$ ), используемый в данном документе, относится к константе скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Это значение также называют значение  $k_{on}$ .

**[00326]** Термин « $K_D$ » (M), используемый в данном документе, относится к константе равновесия диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.  $K_D = k_d/k_a$ . В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела описывается в терминах  $K_D$  для взаимодействия между таким антителом и его антигеном. Для ясности, как известно в данной области техники, меньшее значение  $K_D$  указывает на более высокое аффинное взаимодействие, тогда как большее значение  $K_D$  указывает на более низкое аффинное взаимодействие.

**[00327]** Термин « $K_A$ » ( $\text{M}^{-1}$ ), используемый в данном документе, относится к константе равновесия ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.  $K_A = k_a/k_d$ .

**[00328]** Антитело с «созревшей аффинностью» представляет собой антитело с одним или более изменениями (например, в одной или более CDR или FR) относительно родительского антитела (т.е. антитела, из которого происходит или сконструировано измененное антитело), которые приводят к улучшению в аффинности антитела к его антигену по сравнению с исходным антителом, которое не имеет изменений. В некоторых вариантах осуществления антитело с созревшей аффинностью обладает наномолярной или пикомолярной аффинностью к антигену-мишени. Антитела с созревшей аффинностью могут быть получены с использованием множества способов, известных в данной области техники. Например, Marks et al. (*Bio/Technology*, 1992, 10:779-783, включен в качестве ссылки в полном объеме) описывает созревание аффинности путем перетасовки доменов  $V_H$  и  $V_L$ . Случайный мутагенез остатков CDR и/или каркаса описывается, например, Barbas et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1994, 91:3809-3813; Schier et al., *Gene*, 1995, 169:147-155; Yelton et al., *J. Immunol.*, 1995, 155:1994-2004; Jackson et al., *J. Immunol.*, 1995, 154:3310-3319; и Hawkins et al., *J. Mol. Biol.*, 1992, 226:889-896; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме.

**[00329]** «Эффекторные функции  $F_c$ » относятся к тем биологическим активностям, опосредованным  $F_c$ -областью антитела, которые могут варьировать в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают связывание C1q для активации комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ), связывание с рецептором  $F_c$  для активации антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) и антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ).

**[00330]** При использовании в данном документе в контексте двух или более антител термин «конкурирует с» или «перекрестно конкурирует с» указывает на то, что два или более антитела конкурируют за связывание с антигеном (например, TF). В одном из примеров анализа TF наносят на поверхность и приводят в контакт с первым антителом к TF, после чего добавляют второе антитело к TF. В другом типичном анализе сначала на поверхность наносят антитело к TF и вводят в контакт с TF, а затем добавляют второе антитело к TF. Если присутствие первого антитела к TF снижает связывание второго антитела к TF в любом анализе, тогда антитела конкурируют друг с другом. Термин «конкурирует с» также включает комбинации антител, в которых одно антитело снижает связывание другого антитела, но при этом не наблюдается конкуренции, когда антитела добавляются в обратном порядке. Однако в некоторых вариантах осуществления первое и второе антитело ингибируют связывание друг друга независимо от порядка, в котором они добавлены. В некоторых вариантах осуществления одно антитело снижает связывание другого антитела с его антигеном по меньшей мере на 25 %, по меньшей мере 50 %, по меньшей мере 60 %, по меньшей мере 70 %, по меньшей мере 80 %, по меньшей мере 85 %, по меньшей мере 90 %, или по меньшей мере 95 %. Квалифицированный специалист может выбрать концентрации антител, используемых в конкурентных анализах, на основании аффинности антител к TF и валентности антител. Анализы, описанные в этом определении, являются иллюстративными, и квалифицированный специалист может использовать любой подходящий анализ для определения того, конкурируют ли антитела друг с другом. Подходящие анализы описаны, например, в Cox et al., «Immunoassay Methods», в *Assay Guidance Manual [Internet]*, Updated December 24, 2014 ([www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/); accessed September 29, 2015); Silman et al., *Cytometry*, 2001, 44:30-37; и Finco et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2011, 54:351-358, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Как показано в **Примере 8**, антитела группы 25 и антитела группы 43 конкурируют друг с другом за связывание с TF человека, в то время как антитела из групп 1, 29, 39 и 54 не конкурируют за связывание с TF человека с антителами групп 25 и 43.

**[00331]** В данном контексте считается, что антитело, которое специфически связывается с антигеном человека, связывается с тем же антигеном мышиноного происхождения, когда значение  $K_D$  можно измерить на ForteBio Octet с антигеном мыши. Антитело, которое специфически связывается с антигеном человека, считается «перекрестно-реактивным» с тем же антигеном мышиноного происхождения, если значение  $K_D$  для антигена мыши не более чем в 20 раз превышает соответствующее значение  $K_D$  для соответствующего антигена человека. Например, антитело M1593, описанное в патенте США No. 8722044, 8951525 и 8999333, каждый из которых включен в данное описание в качестве ссылки для всех целей, гуманизированное антитело 5G9, описанное в Ngo et al., 2007, *Int J Cancer*, 120(6):1261-1267, включен в данное описание в качестве ссылки и химерное ALT-836 антитело, описанное антитело в Hong et al, 2012, *J Nucl Med*, 53(11):1748-1754, включен в данное описание в качестве ссылки, не связывается с TF мыши. Как показано в **примерах 1 и 2**, антитела к TF из групп 25 и 43 связываются с TF мыши, например, антитела к TF 25G, 25G1, 25G9 и 43D8 обладают перекрестной реактивностью с TF мыши.

**[00332]** Используемое в данном документе антитело, которое специфически связывается с антигеном человека, считается «перекрестно-реактивным» с тем же антигеном от яванского макака, если значение  $K_D$  для антигена яванского макака не более чем в 15 раз превышает соответствующее значение  $K_D$  для соответствующего антигена человека. Как показано в **Примере 1**, все протестированные антитела из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54 обладают перекрестной реактивностью с TF яванского макака.

**[00333]** Термин «эпитоп» означает часть антигена, которая специфически связывается с антителом. Эпитопы часто содержат доступные на поверхности аминокислотные остатки и/или боковые цепи сахаров и могут иметь специфические трехмерные структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Конформационные и неконформационные эпитопы различаются тем, что связывание с первым, но не со вторым, может быть потеряно в присутствии денатурирующих растворителей. Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, которые непосредственно участвуют в связывании, и другие аминокислотные остатки, которые непосредственно не участвуют в связывании. Эпитоп, с которым связывается антитело, может быть определен с использованием известных методов определения эпитопа, таких как, например, тестирование связывания антитела с вариантами TF с различными точечными мутациями или с химерными вариантами TF.

**[00334]** Процент «идентичности» между полипептидной последовательностью и эталонной последовательностью определяется как процент аминокислотных остатков в полипептидной последовательности, идентичных аминокислотным остаткам в эталонной последовательности после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если необходимо, для достижения максимальной процентной идентичности последовательности. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть осуществлено различными способами, находящимися в компетенции специалиста в данной области техники, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN, MEGALIGN (DNASTAR), CLUSTALW, CLUSTAL OMEGA или MUSCLE. Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

**[00335]** «Консервативная замена» или «консервативная аминокислотная замена» относится к замене аминокислоты на химически или функционально подобную аминокислоту. Таблицы консервативных замен, содержащие аналогичные аминокислоты, хорошо известны в данной области техники. В качестве примера, группы аминокислот, представленные в **таблицах 2-4**, в некоторых вариантах осуществления считаются консервативными заменами друг друга.

**Таблица 2:** Выбранные группы аминокислот, которые считаются консервативными заменами друг друга в определенных вариантах реализации.

<i>Кислотные остатки</i>	D и E
<i>Основные остатки</i>	K, R и H
<i>Гидрофильные незаряженные остатки</i>	S, T, N и Q
<i>Алифатические незаряженные остатки</i>	G, A, V, L и I
<i>Неполярные незаряженные остатки</i>	C, M и P
<i>Ароматические остатки</i>	F, Y и W

**Таблица 3:** Дополнительные выбранные группы аминокислот, которые считаются консервативными заменами друг друга в определенных вариантах реализации.

<i>Группа 1</i>	A, S и T
<i>Группа 2</i>	D и E

Группа 3	N и Q
Группа 4	R и K
Группа 5	I, L и M
Группа 6	F, Y и W

**Таблица 4:** Дальнейшие дополнительные выбранные группы аминокислот, которые считаются консервативными заменами друг друга в определенных вариантах реализации.

Группа A	A и G
Группа B	D и E
Группа C	N и Q
Группа D	R, K и H
Группа E	I, L, M, V
Группа F	F, Y и W
Группа G	S и T
Группа H	C и M

**[00336]** Дополнительные консервативные замены можно найти, например, в Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* 2nd ed. (1993) W. H. Freeman & Co., New York, NY. Антитело, полученное путем одной или более консервативных замен аминокислотных остатков в исходном антителе, называется «консервативно модифицированным вариантом».

**[00337]** Термин «аминокислота» относится к двадцати обычным встречающимся в природе аминокислотам. Встречающиеся в природе аминокислоты включают аланин (Ala; A), аргинин (Arg; R), аспарагин (Asn; N), аспарагиновую кислоту (Asp; D), цистеин (Cys; C); глутаминовую кислоту (Glu; E), глутамин (Gln; Q), глицин (Gly; G); гистидин (His; H), изолейцин (Ile; I), лейцин (Leu; L), лизин (Lys; K), метионин (Met; M), фенилаланин (Phe; F), пролин (Pro; P), серин (Ser; S), треонин (Thr; T), триптофан (Trp; W), тирозин (Tyr; Y) и валин (Val; V).

**[00338]** Термин «вектор» в контексте настоящего документа относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной к размножению другой нуклеиновой кислоты, с которой она связана. Термин включает вектор в качестве самореплицирующейся структуры нуклеиновой кислоты, а также вектор, встроенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Определенные векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в данном документе «экспрессионными векторами».

**[00339]** Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются взаимозаменяемо и относятся к клеткам, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, и к потомству таких клеток. Клетки-хозяева включают «трансформанты» (или «трансформированные клетки») и «трансфектанты» (или «трансфицированные клетки»), каждый из которых включает первично трансформированную или трансфицированную клетку и потомство, полученное от нее. Такое потомство может не быть полностью идентичным родительской клетке по содержанию нуклеиновой кислоты и может содержать мутации.

**[00340]** Термин «лечение» (и его вариации, такие как «лечить» или «процесс лечения») относится к клиническому вмешательству в попытке изменить естественное течение заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом. Лечение может проводиться как с профилактической целью, так и при течении клинической патологии. Желательные эффекты лечения включают предотвращение возникновения или рецидива заболевания, облегчение симптомов, уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, снижение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или смягчение болезненного состояния, а также ремиссию или улучшение прогноза.

**[00341]** Используемый в данном документе термин «терапевтически эффективное количество» или «эффективное количество» относится к количеству антитела или фармацевтической композиции, представленной в данном документе, которое при введении субъекту эффективно для лечения заболевания или нарушения.

**[00342]** Используемый в данном документе термин «субъект» означает субъекта-млекопитающее. Примеры субъектов включают людей, обезьян, собак, кошек, мышей, крыс, коров, лошадей, верблюдов, коз, кроликов, свиней и овец. В определенных вариантах осуществления субъект является человеком. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает заболеванием или состоянием, которое можно лечить с помощью антител, представленных в данном документе. В некоторых аспектах заболевание или патологическое состояние представляет собой рак. В некоторых аспектах заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию или васкулярное воспаление. В определенных аспектах заболевание или патологическое состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), диабетическую ретинопатию или рак.

**[00343]** Термин «листок-вкладыш» используется для обозначения инструкций, обычно включаемых в коммерческие упаковки терапевтических или диагностических продуктов (, например наборы), которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, комбинированной терапии, противопоказаниях и/или предупреждениях относительно использования таких терапевтических или диагностических продуктов.

**[00344]** «Химиотерапевтическое средство» относится к химическому соединению, применимому при лечении рака. Химиотерапевтические агенты включают «антигормональные агенты» или «эндокринные терапевтические агенты», которые действуют, регулируя, уменьшая, блокируя или подавляя эффекты гормонов, которые могут способствовать росту рака.

**[00345]** Термин «цитостатический агент» относится к соединению или композиции, которые останавливают рост клетки *in vitro* или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления цитостатический агент представляет собой агент, который снижает процент клеток в S-фазе. В некоторых вариантах осуществления цитостатический агент снижает процент клеток в S-фазе на по меньшей мере около 20 %, на по меньшей мере около 40 %, на по меньшей мере около 60 % или на по меньшей мере около 80 %.

**[00346]** Термин «фармацевтическая композиция» относится к препарату, который находится в такой форме, чтобы позволить биологической активности содержащегося в нем активного ингредиента быть эффективной при лечении субъекта, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта в организме в количестве, предусмотренном в фармацевтической композиции.

**[00347]** Термины «модулировать» и «модуляция» относятся к снижению или ингибированию или, альтернативно, активации или увеличению указанной переменной.

**[00348]** Термины «увеличить» и «активировать» относятся к увеличению на 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 2-кратное, 3-кратное, 4-кратное, 5-кратное, 10-кратное, 20-кратное, 50-кратное, 100-кратное или большее значение в указанной переменной.

**[00349]** Термины «снижать» и «ингибировать» относятся к уменьшению на 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 2-кратное, 3-кратное, 4-кратное, 5-кратное, 10-кратное, 20-кратное, 50-кратное, 100-кратное или большее значение в указанной переменной.

**[00350]** Термин «агонировать» относится к активации передачи сигналов рецептора, для вызова биологического ответа, связанного с активацией рецептора. «Агонист» представляет собой объект, который связывается с рецептором и агонирует с ним.

**[00351]** Термин «антагонизировать» относится к ингибированию передачи сигналов рецептора для подавления биологической реакции, связанной с активацией рецептора. «Антагонист» представляет собой объект, который связывается с рецептором и антагонизирует с ним.

## **2. Антитела к TF**

### **2.1. Связывание TF**

**[00352]** В данном документе предложены выделенные антитела, которые специфически связываются с TF. В некоторых аспектах TF представляет собой hTF (SEQ ID NO:809). В некоторых аспектах TF представляет собой cTF (SEQ ID NO:813). В некоторых аспектах TF представляет собой mTF (SEQ ID NO:817). В некоторых аспектах TF представляет собой TF кролика (SEQ ID NO:832). В некоторых аспектах TF представляет собой pTF (SEQ ID NO:824). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с hTF (SEQ ID NO:809), cTF (SEQ ID NO:813), mTF (SEQ ID NO:817), TF кролика (SEQ ID NO:832) и pTF (SEQ ID NO:824). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с hTF (SEQ ID NO:809), cTF (SEQ ID NO:813), mTF (SEQ ID NO:817) и pTF (SEQ ID NO:824). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с hTF (SEQ ID NO:809), cTF (SEQ ID NO:813) и mTF (SEQ ID NO:817). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с hTF (SEQ ID NO:809) и cTF (SEQ ID NO:813). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не связывают mTF (SEQ ID NO: 817). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не связывают pTF (SEQ ID NO: 824). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не связывают TF кролика (SEQ ID NO: 832).

**[00353]** В различных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с внеклеточным доменом TF человека (SEQ ID NO: 810).

**[00354]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности,

представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N.

**[00355]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N.

**[00356]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

**[00357]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00358]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00359]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.



представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00366]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание антитела с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N; а мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K68N.

**[00367]** В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149



представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF крысы 164-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N; мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K68N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

**[00368]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, являются инертными в отношении ингибирования образования тромбина человека, что определено анализом определено образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом M1593, где эталонное антитело M1593 содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO: 821 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO: 822.

**[00369]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не ингибируют образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA). В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, обеспечивают образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA).

**[00370]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связывают TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa.

**[00371]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связывают TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека.

**[00372]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека, связывают TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FVIIa человека, связывают TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX

человека, и обеспечивают образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA).

**[00373]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека, не ингибируют образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека.

**[00374]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FVIIa человека, и не ингибируют образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивают образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), связываются с TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека.

**[00375]** В некоторых вариантах осуществления, антитела, предложенные в данном документе, ингибируют FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

**[00376]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, уменьшают размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

**[00377]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FVIIa человека, и не ингибируют образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивают образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), связываются с TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa, не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека и связываются с TF яванского макака и мыши.

**[00378]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FVIIa человека, и не ингибируют образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивают образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), связываются с TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa, не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека, связываются с TF яванского макака, мыши и свиньи, и уменьшают размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

**[00379]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека, ингибируют FVIIa-зависимую передачу сигналов TF и связываются с TF яванского макака.

## **2.2. Последовательности антител к TF**

### **2.2.1. Домены V<sub>H</sub>**

**[00380]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$ , выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:37. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:75. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:113. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:151. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:189. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:836. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:227. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:265. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:303. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:341. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:379. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:417. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:455. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:493. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:531. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:569. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:607. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:645. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:683. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:721. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:759.

**[00381]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$ , имеющую по меньшей мере около 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % или 99 % идентичности с иллюстративной последовательностью  $V_H$ , предложенной в SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$ , предложенную в SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены

из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

### 2.2.2. Домены $V_L$

**[00382]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$ , выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:76. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:190. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:837. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:266. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:304. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:342. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:380. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:418. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:456. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:494. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:532. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:570. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:608. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:646. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:684. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:722. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:760.

**[00383]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$ , имеющую по меньшей мере около 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % или 99 %

идентичности с иллюстративной последовательностью  $V_L$ , предложенной в SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_L$ , предложенную в SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

### 2.2.3. Комбинации $V_H$ - $V_L$

**[00384]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$ , выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, и последовательность  $V_L$ , выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760.

**[00385]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:37 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:75 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:76. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:113 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:151 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:189 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:190. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:836 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:837. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:227 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:265 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:266. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:303 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:304. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:341 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:342. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:379 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:380. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:417 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:418. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:455 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:456. В некоторых

вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:493 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:494. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:531 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:532. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:569 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:570. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:607 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:608. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:645 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:646. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:683 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:684. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:721 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:722. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:759 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:760.

**[00386]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub>, имеющую по меньшей мере около 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % или 99 % идентичности с иллюстративной последовательностью V<sub>H</sub>, предложенной в SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, и последовательность V<sub>L</sub>, имеющую по меньшей мере около 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % или 99 % идентичности с иллюстративной последовательностью V<sub>L</sub>, предложенной в SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V<sub>H</sub>, предложенную в SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислотных замен, и последовательность V<sub>L</sub>, предложенную в SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антителя, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антители.

#### 2.2.4. CDR

**[00387]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит от одной до трех CDR домена V<sub>H</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит от двух до трех CDR домена V<sub>H</sub>, выбранного из SEQ ID NO:

37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит три CDR домена  $V_H$ , выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых аспектах CDR представляют собой иллюстративные CDR. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Kabat. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Chothia. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по AbM. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Contact. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по IMGT.

**[00388]** В некоторых вариантах осуществления CDR представляют собой CDR, имеющие по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H1, CDR-H2 или CDR-H3 из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления CDR-H1 представляет собой CDR-H1 домена  $V_H$ , выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 представляет собой CDR-H2 домена  $V_H$ , выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 домена  $V_H$ , выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00389]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит от одной до трех CDR домена  $V_L$ , выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит от двух до трех CDR домена  $V_L$ , выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит три CDR домена  $V_L$ , выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых аспектах CDR представляют собой иллюстративные CDR. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Kabat. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Chothia. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по AbM. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Contact. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по IMGT.

**[00390]** В некоторых вариантах осуществления CDR представляют собой CDR, имеющие по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L1, CDR-L2 или CDR-L3 из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления CDR-L1 представляет собой CDR-L1 домена  $V_L$ , выбранного из SEQ

ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления CDR-L2 представляет собой CDR-L2 домена V<sub>L</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3 домена V<sub>L</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00391]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит от одной до трех CDR домена V<sub>H</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, и от одной до трех CDR домена V<sub>L</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит от двух до трех CDR домена V<sub>H</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, и от двух до трех CDR домена V<sub>L</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит три CDR домена V<sub>H</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, и три CDR домена V<sub>L</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых аспектах CDR представляют собой иллюстративные CDR. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Kabat. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Chothia. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по AbM. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по Contact. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по IMGT.

**[00392]** В некоторых вариантах осуществления CDR представляют собой CDR, имеющие по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H1, CDR-H2 или CDR-H3 SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, и по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L1, CDR-L2 или CDR-L3 SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления CDR-H1 представляет собой CDR-H1 домена V<sub>H</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 домена V<sub>H</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотными заменами; CDR-H3 представляет собой CDR-H3 домена V<sub>H</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645,

683, 721 и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотными заменами; CDR-L1 представляет собой CDR-L1 домена V<sub>L</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотными заменами; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 домена V<sub>L</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760, с вплоть до 1, 2, 3 или 4 аминокислотными заменами; и CDR-L3 представляет собой CDR-L3 домена V<sub>L</sub>, выбранного из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00393]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, что определено иллюстративной системой нумерации. В некоторых аспектах CDR-H3 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H3 из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00394]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, что определено иллюстративной системой нумерации. В некоторых аспектах CDR-H2 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H2 из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724. В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 представляет собой CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-

направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00395]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723, что определено иллюстративной системой нумерации. В некоторых аспектах CDR-H1 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H1 из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723. В некоторых вариантах осуществления CDR-H1 представляет собой CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00396]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, и CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, и CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H3 SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, CDR-H2 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H2 SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, а CDR-H1 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H1 SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; а CDR-H1 представляет собой CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723, с вплоть до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления

антитело, описанное в данном абзаце, называется «вариантом». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00397]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, что определено иллюстративной системой нумерации. В некоторых аспектах CDR-L3 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L3 из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00398]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727, что определено иллюстративной системой нумерации. В некоторых аспектах CDR-L2 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L2 из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727. В некоторых вариантах осуществления CDR-L2 представляет собой CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00399]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726, что определено иллюстративной системой нумерации. В некоторых аспектах CDR-L1 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L1 из SEQ ID

NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-L1 представляет собой CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726, с заменами вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислот. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00400]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, и CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727, и CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L3 SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, CDR-L2 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L2 SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727, а CDR-L1 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L1 SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, с вплоть до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727, с вплоть до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; а CDR-L1 представляет собой CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

**[00401]** В некоторых вариантах осуществления антитело, представленное в данном документе, содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723, а CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727, и CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H3 SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, CDR-H2 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H2 SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, CDR-H1 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-H1 SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723, CDR-L3 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L3 SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, CDR-L2 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L2 SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727, и CDR-L1 имеет по меньшей мере около 50 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % или 95 % идентичности с CDR-L1 SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H1 представляет собой CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723, с вплоть до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L3 представляет собой CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728, с вплоть до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727, с вплоть до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном абзаце, называются «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, предложенной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, предложенной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, предложенным в данном документе, для получения антител.

- [00402]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:1, CDR-H2 SEQ ID NO:2, CDR-H3 SEQ ID NO:3, CDR-L1 SEQ ID NO:4, CDR-L2 SEQ ID NO:5 и CDR-L1 SEQ ID NO:6, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00403]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:39, CDR-H2 SEQ ID NO:40, CDR-H3 SEQ ID NO:41, CDR-L1 SEQ ID NO:42, CDR-L2 SEQ ID NO:43 и CDR-L1 SEQ ID NO:44, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00404]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:77, CDR-H2 SEQ ID NO:78, CDR-H3 SEQ ID NO:79, CDR-L1 SEQ ID NO:80, CDR-L2 SEQ ID NO:81 и CDR-L1 SEQ ID NO:82, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00405]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:115, CDR-H2 SEQ ID NO:116, CDR-H3 SEQ ID NO:117, CDR-L1 SEQ ID NO:118, CDR-L2 SEQ ID NO:119 и CDR-L1 SEQ ID NO:120, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00406]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:153, CDR-H2 SEQ ID NO:154, CDR-H3 SEQ ID NO:155, CDR-L1 SEQ ID NO:156, CDR-L2 SEQ ID NO:157 и CDR-L1 SEQ ID NO:158, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00407]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:884, CDR-H2 SEQ ID NO:885, CDR-H3 SEQ ID NO:886, CDR-L1 SEQ ID NO:887, CDR-L2 SEQ ID NO:888 и CDR-L1 SEQ ID NO:889, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00408]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:191, CDR-H2 SEQ ID NO:192, CDR-H3 SEQ ID NO:193, CDR-L1 SEQ ID NO:194, CDR-L2 SEQ ID NO:195 и CDR-L1 SEQ ID NO:196, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00409]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:229, CDR-H2 SEQ ID NO:230, CDR-H3 SEQ ID NO:231, CDR-L1 SEQ ID NO:232, CDR-L2 SEQ ID NO:233 и CDR-L1 SEQ ID NO:234, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00410]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:267, CDR-H2 SEQ ID NO:268, CDR-H3 SEQ ID NO:269, CDR-L1 SEQ ID NO:270, CDR-L2 SEQ ID NO:271 и CDR-L1 SEQ ID NO:272, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00411]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:305, CDR-H2 SEQ ID NO:306, CDR-H3 SEQ ID NO:307, CDR-L1 SEQ ID NO:308, CDR-L2 SEQ ID NO:309 и CDR-L1 SEQ ID NO:310, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00412]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:343, CDR-H2 SEQ ID NO:344, CDR-H3 SEQ ID NO:345, CDR-L1 SEQ ID NO:346, CDR-L2 SEQ ID NO:347 и CDR-L1 SEQ ID NO:348, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00413]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:381, CDR-H2 SEQ ID NO:382, CDR-H3 SEQ ID NO:383, CDR-L1 SEQ ID NO:384, CDR-L2 SEQ ID NO:385 и CDR-L1 SEQ ID NO:386, что определено иллюстративной системой нумерации.
- [00414]** В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:419, CDR-H2 SEQ ID NO:420, CDR-H3 SEQ ID NO:421, CDR-L1 SEQ ID NO:422, CDR-L2 SEQ ID NO:423 и CDR-L1 SEQ ID NO:424, что определено иллюстративной системой нумерации.

**[00415]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:457, CDR-H2 SEQ ID NO:458, CDR-H3 SEQ ID NO:459, CDR-L1 SEQ ID NO:460, CDR-L2 SEQ ID NO:461 и CDR-L1 SEQ ID NO:462, что определено иллюстративной системой нумерации.

**[00416]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:495, CDR-H2 SEQ ID NO:496, CDR-H3 SEQ ID NO:497, CDR-L1 SEQ ID NO:498, CDR-L2 SEQ ID NO:499 и CDR-L1 SEQ ID NO:500, что определено иллюстративной системой нумерации.

**[00417]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:533, CDR-H2 SEQ ID NO:534, CDR-H3 SEQ ID NO:535, CDR-L1 SEQ ID NO:536, CDR-L2 SEQ ID NO:537 и CDR-L1 SEQ ID NO:538, что определено иллюстративной системой нумерации.

**[00418]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:571, CDR-H2 SEQ ID NO:572, CDR-H3 SEQ ID NO:573, CDR-L1 SEQ ID NO:574, CDR-L2 SEQ ID NO:575 и CDR-L1 SEQ ID NO:576, что определено иллюстративной системой нумерации.

**[00419]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:609, CDR-H2 SEQ ID NO:610, CDR-H3 SEQ ID NO:611, CDR-L1 SEQ ID NO:612, CDR-L2 SEQ ID NO:613 и CDR-L1 SEQ ID NO:614, что определено иллюстративной системой нумерации.

**[00420]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:647, CDR-H2 SEQ ID NO:648, CDR-H3 SEQ ID NO:649, CDR-L1 SEQ ID NO:650, CDR-L2 SEQ ID NO:651 и CDR-L1 SEQ ID NO:652, что определено иллюстративной системой нумерации.

**[00421]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:685, CDR-H2 SEQ ID NO:686, CDR-H3 SEQ ID NO:687, CDR-L1 SEQ ID NO:688, CDR-L2 SEQ ID NO:689 и CDR-L1 SEQ ID NO:690, что определено иллюстративной системой нумерации.

**[00422]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:723, CDR-H2 SEQ ID NO:724, CDR-H3 SEQ ID NO:725, CDR-L1 SEQ ID NO:726, CDR-L2 SEQ ID NO:727 и CDR-L1 SEQ ID NO:728, что определено иллюстративной системой нумерации.

#### **2.2.5. Консенсусные последовательности**

**[00423]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено первое семейство антител, причем антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-F-T-F-S-X<sub>1</sub>-Y-A-M-X<sub>2</sub>, где X<sub>1</sub> представляет собой D или S, и X<sub>2</sub> представляет собой A или G (SEQ ID NO:773); (b) CDR-H2, имеющую последовательность X<sub>3</sub>-I-S-G-S-G-L-T-Y-Y-A-D-S-V-K-G, где X<sub>3</sub> представляет собой A или T (SEQ ID NO:774); (c) CDR-H3, имеющую последовательность APYGYMDV (SEQ ID NO:775); (d) CDR-L1, имеющую последовательность RASQSISSWLA (SEQ ID NO:776); (e) CDR-L2, имеющую последовательность KASSLES (SEQ ID NO:777); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность QQYKSYIT (SEQ ID NO:778). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:761 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:762. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого первого семейства.

**[00424]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено второе семейство антител, причем антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-Y-T-F-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-Y-G-I-S, где X<sub>1</sub> представляет собой D или R и X<sub>2</sub> представляет собой S или V (SEQ ID NO:779); (b) CDR-H2, имеющую последовательность W-X<sub>3</sub>-A-P-Y-X<sub>4</sub>-

G-N-T-N-Y-A-Q-K-L-Q-G, где  $X_3$  представляет собой I или V и  $X_4$  представляет собой S или N (SEQ ID NO:780); (c) CDR-H3, имеющую последовательность D-A-G-T-Y-S-P- $X_5$ -G-Y-G-M-D-V, где  $X_5$  представляет собой F или Y (SEQ ID NO:781); (d) CDR-L1, имеющую последовательность  $X_6$ -A-S- $X_7$ -S-I- $X_8$ - $X_9$ -W-L-A, где  $X_6$  представляет собой R или Q,  $X_7$  представляет собой Q, E или H,  $X_8$  представляет собой S, D или N, и  $X_9$  представляет собой S или N (SEQ ID NO:782); (e) CDR-L2, имеющую последовательность  $X_{10}$ -A- $X_{11}$ - $X_{12}$ -L-E- $X_{13}$ , где  $X_{10}$  представляет собой K или S,  $X_{11}$  представляет собой S или Y,  $X_{12}$  представляет собой S, Y или N, и  $X_{13}$  представляет собой S или Y (SEQ ID NO:783); (f) CDR-L3, имеющую последовательность Q- $X_{14}$ -F-Q- $X_{15}$ -L-P-P-F-T, где  $X_{14}$  представляет собой Q, L или R и  $X_{15}$  представляет собой S или K (SEQ ID NO:784). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:763 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:764. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого второго семейства.

**[00425]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено третье семейство антител, причем антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-F-T-F- $X_1$ -S- $X_2$ -G-M-H, где  $X_1$  представляет собой H или R, и  $X_2$  представляет собой R или Y (SEQ ID NO:785); (b) CDR-H2, имеющую последовательность VITYDGINKYYADSVEG (SEQ ID NO:786); (c) CDR-H3, имеющую последовательность DGVYYGVYDY (SEQ ID NO:787); (d) CDR-L1, имеющую последовательность KSSQSVLFSSNNKNYLA (SEQ ID NO:788); (e) CDR-L2, имеющую последовательность WASTRES (SEQ ID NO:789); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность QQFHSYPLT (SEQ ID NO:790). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:765 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:766. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого третьего семейства.

**[00426]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено четвертое семейство антител, причем антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность GGTFSSNAIG (SEQ ID NO:791); (b) CDR-H2, имеющую последовательность SIPIIGFANYAQKFQG (SEQ ID NO:792); (c) CDR-H3, имеющую последовательность DSGYYYGASSFGMDV (SEQ ID NO:793); (d) CDR-L1, имеющую последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:794); (e) CDR-L2, имеющую последовательность GASTRAT (SEQ ID NO:795); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность EQYNNLPLT (SEQ ID NO:796). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность  $V_H$  SEQ ID NO:767 и последовательность  $V_L$  SEQ ID NO:768. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого четвертого семейства.

**[00427]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено пятое семейство антител, причем антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) a CDR-H1, имеющую последовательность G-G-S- $X_1$ -S-S-G- $X_2$ -Y-W-S, где  $X_1$  представляет собой I или L и  $X_2$  представляет собой Q или Y (SEQ ID NO:797); (b) CDR-H2, имеющую последовательность E-I- $X_3$ - $X_4$ -S-G-S-T-R-Y-N-P-S-L-K-S, где  $X_3$  представляет собой Y или G и  $X_4$  представляет собой Y или A (SEQ ID NO:798); (c) CDR-H3, имеющую последовательность D- $X_5$ -P-Y-Y- $X_6$ -G-G-Y-Y-Y-M-D-V, где  $X_5$  представляет собой T или A и  $X_6$  представляет собой E, G, или D (SEQ ID NO:799); (d) CDR-L1, имеющую последовательность R-A-S- $X_7$ -S-V- $X_8$ -S-S- $X_9$ -L-A, где  $X_7$  представляет собой Q, E, или D,  $X_8$  представляет собой S или D, и  $X_9$  представляет собой Y или F (SEQ ID NO:800); (e) CDR-L2, имеющую

последовательность G-A-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-R-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>, где X<sub>10</sub> представляет собой S, D, F, или Y, X<sub>11</sub> представляет собой S или T, X<sub>12</sub> представляет собой A или Q, и X<sub>13</sub> представляет собой T или N (SEQ ID NO:801); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность Q-Q-X<sub>14</sub>-G-V-V-P-Y-T, где X<sub>14</sub> представляет собой V, A или D (SEQ ID NO:802). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:769 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:770. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого пятого семейства.

**[00428]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено шестое семейство антител, причем антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность GYTFANYMН (SEQ ID NO:803); (b) CDR-H2, имеющую последовательность IINPSGGITVYAQKFQG (SEQ ID NO:804); (c) CDR-H3, имеющую последовательность GGSKVAALAFDI (SEQ ID NO:805); (d) CDR-L1, имеющую последовательность QASQDISNSLN (SEQ ID NO:806); (e) CDR-L2, имеющую последовательность DASNLET (SEQ ID NO:807); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность QQYNFHPLT (SEQ ID NO:808). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:771 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:772. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого шестого семейства.

**[00429]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено седьмое семейство антител, причем антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-Y-T-F-D-X<sub>1</sub>-Y-G-I-S, где X<sub>1</sub> is V или A (SEQ ID NO:872); (b) CDR-H2, имеющую последовательность W-I-A-P-Y-X<sub>2</sub>-G-N-T-N-Y-A-Q-K-L-Q-G, где X<sub>2</sub> представляет собой N или S (SEQ ID NO:873); (c) CDR-H3, имеющую последовательность D-A-G-T-Y-S-P-F-G-Y-G-M-D-V (SEQ ID NO:874); (d) CDR-L1, имеющую последовательность X<sub>3</sub>-A-S-X<sub>4</sub>-S-I-X<sub>5</sub>-X<sub>6</sub>-W-L-A, где X<sub>3</sub> представляет собой R или Q, X<sub>4</sub> представляет собой Q или E, X<sub>5</sub> представляет собой S или N, и X<sub>6</sub> представляет собой S или N (SEQ ID NO:875); (e) CDR-L2, имеющую последовательность K-A-X<sub>7</sub>-X<sub>8</sub>-L-E-X<sub>9</sub>, где X<sub>7</sub> представляет собой S или Y, X<sub>8</sub> представляет собой S или N, и X<sub>9</sub> представляет собой S или Y (SEQ ID NO:876); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность Q-X<sub>10</sub>-F-Q-X<sub>11</sub>-L-P-P-F-T, где X<sub>10</sub> представляет собой Q или L, и X<sub>11</sub> представляет собой S или K (SEQ ID NO:877). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:868 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:869. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого седьмого семейства.

**[00430]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено седьмое восьмое семейство антител, причем антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-Y-T-F-R-S-Y-G-I-S (SEQ ID NO:878); (b) CDR-H2, имеющую последовательность W-V-A-P-Y-X<sub>1</sub>-G-N-T-N-Y-A-Q-K-L-Q-G, где X<sub>1</sub> представляет собой S или N (SEQ ID NO:879); (c) CDR-H3, имеющую последовательность D-A-G-T-Y-S-P-Y-G-Y-G-M-D-V (SEQ ID NO:880); (d) CDR-L1, имеющую последовательность X<sub>2</sub>-A-S-X<sub>3</sub>-S-I-X<sub>4</sub>-S-W-L-A, где X<sub>2</sub> представляет собой R или Q, X<sub>3</sub> представляет собой Q или H, X<sub>4</sub> представляет собой S или D (SEQ ID NO:881); (e) CDR-L2, имеющую последовательность X<sub>5</sub>-A-S-X<sub>6</sub>-L-E-S, где X<sub>5</sub> представляет собой K или S, X<sub>6</sub> представляет собой S или Y (SEQ ID NO:882); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность Q-X<sub>7</sub>-F-Q-S-L-P-P-F-T, где X<sub>7</sub> представляет собой Q, L или R (SEQ ID NO:883). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V<sub>H</sub> SEQ ID NO:870 и последовательность V<sub>L</sub> SEQ ID NO:871. В

некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого восьмого семейства.

### 2.2.6. Функциональные свойства вариантов антител

**[00431]** Как описано выше и в другом месте в данном изобретении, в данном документе предложены варианты антител, определенные на основе процента идентичности с иллюстративной последовательностью антитела, представленной в данном документе, или замен аминокислотных остатков по сравнению с иллюстративной последовательностью антитела, представленной в данном документе.

**[00432]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к hTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к cTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к mTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к hTF и cTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к hTF и mTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к cTF и mTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к hTF, cTF и mTF.

**[00433]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью  $K_D$ , к hTF, которая в около 1,5-раз, около 2-раз, около 3-раз, около 4-раз, около 5-раз, около 6-раз, около 7-раз, около 8-раз, около 9-раз или около 10-раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью  $K_D$ , к cTF, которая в около 1,5-раз, около 2-раз, около 3-раз, около 4-раз, около 5-раз, около 6-раз, около 7-раз, около 8-раз, около 9-раз или около 10-раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью  $K_D$ , к mTF, которая в около 1,5-раз, около 2-раз, около 3-раз, около 4-раз, около 5-раз, около 6-раз, около 7-раз, около 8-раз, около 9-раз или около 10-раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью  $K_D$ , к hTF и cTF, которая в около 1,5-раз, около 2-раз, около 3-раз, около 4-раз, около 5-раз, около 6-раз, около 7-раз, около 8-раз, около 9-раз или около 10-раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью  $K_D$ , к hTF и mTF, которая в около 1,5-раз, около 2-раз, около 3-раз, около 4-раз, около 5-раз, около 6-раз, около 7-раз, около 8-раз, около 9-раз или около 10-раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью  $K_D$ , к cTF и mTF, которая в около 1,5-раз, около 2-раз, около 3-раз, около 4-раз, около 5-раз, около 6-раз, около 7-раз, около 8-раз, около 9-раз или около 10-раз больше аффинности такого иллюстративного антитела.

аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью  $K_D$ ,  $k_{hTF}$ ,  $sTF$  и  $mTF$ , которая в около 1,5-раз, около 2-раз, около 3-раз, около 4-раз, около 5-раз, около 6-раз, около 7-раз, около 8-раз, около 9-раз или около 10-раз больше аффинности такого иллюстративного антитела.

**[00434]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, сохраняет способность ингибировать передачу сигналов TF, что измерено одним или более анализами или биологическими эффектами, описанными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, сохраняет нормальную функцию TF в процессах свертывания крови.

**[00435]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 1F, 1G, 25A, 25A3, 25A5, 25A5-T, 25G, 25G1, 25G9, 29D, 29E, 39A, 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7, 43D8, 43E, 43Ea и 54E, каждое является таким, как предложено в **Таблице 13** данного документа. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 25A, 25A3, 25A5, 25A5-T, 25G, 25G1 и 25G9. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7, 43D8, 43E и 43Ea. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 25A, 25A3, 25A5, 25A5-T, 25G, 25G1, 25G9, 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7, 43D8, 43E и 43Ea. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 1F, 1G, 29D, 29E, 39A или 54E.

**[00436]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обеспечивает образование тромбина человека, что определено с помощью анализа образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не ингибирует образование тромбина человека, что определено с помощью анализа образования тромбина (TGA).

**[00437]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не влияет на способность TF:FVIIa преобразовывать FX в FXa.

**[00438]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

**[00439]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

**[00440]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF мышцы (SEQ ID NO: 817). В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF мышцы с аффинностью более низкой (на что указывает

более высокая  $K_D$ ), чем аффинность антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не связывает mTF.

**[00441]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF свиньи (SEQ ID NO: 824). В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF свиньи с аффинностью более низкой (на что указывает более высокая  $K_D$ ), чем аффинность антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не связывает pTF.

**[00442]** В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает тот же эпитоп TF, что и такое антитело.

### 2.2.7. Другие функциональные свойства антител

**[00443]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет одну или более характеристик (a)-(dd), перечисленных ниже: (a) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; (b) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (c) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (e) не снижает потенциал эндогенного тромбина(ETP), определяемый площадью под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (f) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (g) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (h) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (i) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), определяемый площадью под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (j) связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (k) не влияет на способность TF: FVIIa конвертировать FX в FXa; (l) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (m) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (n) связывается с TF яванского макака; (o) связывается с TF мыши; (p) связывается с TF кролика; (q) связывается с TF свиньи; (r) уменьшает размер поражения в модели хориональной неоваскуляризации свиней (CNV); (s) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации по аминокислотным остаткам 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между





выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать одну или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать две или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать три или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать четыре или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать пять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать шесть или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать семь или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать восемь или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать девять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет все тридцать характеристик (a)-(dd), перечисленных выше.

**[00444]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет одну или более характеристик (a)-(dd), перечисленных ниже: (a) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; (b) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (c) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (e) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), определяемый площадью под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (f) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (g) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (h) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (i) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), определяемый площадью под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (j) связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (k) не влияет на способность TF: FVIIa конвертировать FX в FXa; (l) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (m) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (n) связывается с TF яванского макака; (o) связывается с TF мыши; (p) связывается с TF кролика; (q) связывается с TF свиньи; (r) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (s) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащего мутацию K149N последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание антитела с вариантом





осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет шестнадцать или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет семнадцать или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет восемнадцать или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет девятнадцать или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать одну или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать две или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать три или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать четыре или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать пять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать шесть или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать семь или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать восемь или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет двадцать девять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет все тридцать характеристик (a)-(dd), перечисленных выше.

**[00445]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, проявляет комбинацию характеристик, включающую две или более характеристик (a)-(dd), перечисленных ниже: (a) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; (b) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (c) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (e) не снижает потенциал эндогенного тромбина(ETP), определяемый площадью под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (f) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (g) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (h) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (i) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), определяемый площадью под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (j) связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (k) не влияет на способность TF: FVIIa конвертировать FX в FXa; (l) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (m) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (n) связывается с TF яванского макака;

(o) связывается с TF мыши; (p) связывается с TF кролика; (q) связывается с TF свиньи; (r) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (s) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по среднему значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации по аминокислотным остаткам 171 и 197 в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (v) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (w) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (x) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (y) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (z) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-219 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-224 последовательности внеклеточного домена TF крысы,

представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (aa) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (bb) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (cc) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (dd) связывание антитела с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности внеклеточного домена TF человека, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00446]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, демонстрирует комбинацию характеристик, включающую две или более характеристик (a)-(dd), перечисленных ниже: (a) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; (b) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (c) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (e) не снижает потенциал эндогенного тромбина(ETP), определяемый площадью под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (f) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); (g) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем; (h) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (i) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), определяемый площадью под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (j) связывает TF человека на сайте

связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека; (k) не влияет на способность TF: FVIIa конвертировать FX в FXa; (l) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека; (m) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF; (n) связывается с TF яванского макака; (o) связывается с TF мыши; (p) связывается с TF кролика; (q) связывается с TF свиньи; (r) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (s) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание антитела с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K68N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (v) связывание антитела с внеклеточным доменом человеческого TF с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (w) связывание антитела с внеклеточным доменом человеческого TF с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (x) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (y) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе

окрашивания живых клеток; (z) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-219 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-224 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (aa) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (bb) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (cc) связывание антитела с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (dd) связывание антитела с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности внеклеточного домена TF человека, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00447]** В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00448]** В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания

TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00449]** В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00450]** В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00451]** В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00452]** В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания

TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00453]** В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00454]** В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00455]** В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не

ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); связывается с TF яванского макака; связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00456]** В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); связывается с TF яванского макака; связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00457]** В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); связывается с TF яванского макака; связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

**[00458]** В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека в сайте связывания

TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); связывается с TF яванского макака; связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

### **2.3. Аффинность и другие свойства антител к TF**

#### **2.3.1. Аффинность антител к TF**

**[00459]** В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к TF, как показано посредством  $K_D$ , составляет менее чем около  $10^{-5}$  М, менее чем около  $10^{-6}$  М, менее чем около  $10^{-7}$  М, менее чем около  $10^{-8}$  М, менее чем около  $10^{-9}$  М, менее чем около  $10^{-10}$  М, менее чем около  $10^{-11}$  М или менее чем около  $10^{-12}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-7}$  М до  $10^{-12}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-7}$  М до  $10^{-11}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-7}$  М до  $10^{-10}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-7}$  М до  $10^{-9}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-7}$  М до  $10^{-8}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-8}$  М до  $10^{-12}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-8}$  М до  $10^{-11}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-9}$  М до  $10^{-11}$  М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около  $10^{-10}$  М до  $10^{-11}$  М.

**[00460]** В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем  $15\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем  $10\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем  $8\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем  $5\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем  $3\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем  $2\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF.

**[00461]** В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем  $20\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем

15× от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем 10× от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем 5× от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем 2× от значения  $K_D$  антитела к hTF.

**[00462]** В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к hTF, обозначенную  $K_D$  измеренную Biacore, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 0,31 нМ, около 6,20 нМ, около 0,36 нМ, около 0,08 нМ, около 23,0 нМ, около 0,94 нМ, около 13,3 нМ, около 0,47 нМ, около 0,09 нМ, около 1,75 нМ, около 0,07 нМ, около 0,14 нМ, около 2,09 нМ, около 0,06 нМ, около 0,15 нМ, около 1,46 нМ, около 1,60 нМ и около 0,42 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная  $K_D$ , находится в диапазоне от около 23,0 нМ до около 0,06 нМ. В некоторых вариантах осуществления она составляет около 23,0 нМ или менее.

**[00463]** В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к hTF, обозначенную  $K_D$ , измеренную ForteBio, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 1,28 нМ, около 2,20 нМ, около 8,45 нМ, около 1,67 нМ, около 0,64 нМ, около 21,9 нМ, около 3,97 нМ, около 35,8 нМ, около 3,30 нМ, около 2,32 нМ, около 0,83 нМ, около 2,40 нМ, около 0,96 нМ, около 0,86 нМ, около 3,84 нМ, около 1,02 нМ, около 1,61 нМ, около 2,52 нМ, около 2,28 нМ и около 1,59 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная  $K_D$ , находится в диапазоне от около 35,8 нМ до около 0,64 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая  $K_D$  составляет около 35,8 нМ или менее.

**[00464]** В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к cTF, обозначенную  $K_D$  измеренную Biacore, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 0,26 нМ, около 5,42 нМ, около 0,21 нМ, около 0,04 нМ, около 18,0 нМ, около 0,78 нМ, около 16,4 нМ, около 5,06 нМ, около 0,08 нМ, около 5,64 нМ, около 0,12 нМ, около 0,24 нМ, около 5,66 нМ, около 0,39 нМ, около 5,69 нМ, около 6,42 нМ и около 1,83 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная  $K_D$ , находится в диапазоне от около 18,0 нМ до около 0,04 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая  $K_D$  составляет около 18,0 нМ или менее.

**[00465]** В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к cTF, обозначенную  $K_D$ , измеренную ForteBio, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 1,43 нМ, около 2,70 нМ, около 7,65 нМ, около 1,36 нМ, около 0,76 нМ, около 17,5 нМ, около 4,99 нМ, около 42,9 нМ, около 12,0 нМ, около 15,0 нМ, около 0,57 нМ, около 3,40 нМ, около 1,05 нМ, около 0,94 нМ, около 4,12 нМ, около 1,11 нМ, около 1,96 нМ, около 4,07 нМ, около 2,71 нМ и около 4,16 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная  $K_D$ , находится в диапазоне от около 42,9 нМ до около 0,57 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая  $K_D$  составляет около 42,9 нМ или менее.

**[00466]** В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к mTF, обозначенную  $K_D$  измеренную Biacore, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 5,4 нМ, около 2,9 нМ, около 21 нМ и около 2,4 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная  $K_D$ , находится в диапазоне от около 21 нМ до около 2,4 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая  $K_D$  составляет около 21 нМ или менее.

**[00467]** В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к mTF, обозначенную  $K_D$  измеренную ForteBio, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 263

нМ, около 131 нМ, около 188 нМ, около 114 нМ, около 34,2 нМ, около 9,16 нМ, около 161 нМ, около 72,1 нМ, около 360 нМ, около 281 нМ, около 41,4 нМ, около 6,12 нМ, около 121 нМ и около 140 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная  $K_D$ , находится в диапазоне от около 360 нМ до около 6,12 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая  $K_D$  составляет около 360 нМ или менее.

**[00468]** В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела, предложенного в данном документе, к hTF, обозначенную  $EC_{50}$ , измеренную с позитивными в отношении TF человека клетками НСТ-116, представленную на **Фиг. 1А и 1В**, выбирают из около 50 пМ, около 58 пМ, около 169 пМ, около 77 пМ, около 88 пМ, около 134 пМ, около 85 пМ, около 237 пМ, около 152 пМ, около 39 пМ, около 559 пМ, около 280 пМ, около 255 пМ, около 147 пМ, около 94 пМ, около 117 пМ, около 687 пМ, около 532 пМ и около 239 пМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность находится в диапазоне от около 687 пМ до около 39 пМ. В некоторых вариантах осуществления такая  $EC_{50}$  составляет около 687 пМ или менее.

**[00469]** В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела, предложенного в данном документе, к mTF, обозначенную  $EC_{50}$ , измеренную с позитивными в отношении TF мыши клетками СНО, представленную на **Фиг. 2А и 2В** выбирают из около 455 нМ, около 87 нМ, около 11 нМ, около 3,9 нМ, около 3,0 нМ, около 3,4 нМ, около 255 нМ, около 2,9 нМ, около 3,6 нМ и около 4,0 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность находится в диапазоне от около 455 нМ до около 2,9 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая  $EC_{50}$  составляет около 455 пМ или менее.

**[00470]** В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем  $20\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем  $15\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем  $10\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем  $5\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение  $K_D$  предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем  $2\times$  от значения  $K_D$  антитела к hTF.

**[00471]** В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к pTF, обозначенная  $K_D$  измеренную ViaCore, и указанная в Таблице 40 составляет 3,31 нМ или 12,9 нМ.

### 2.3.2. Образование тромбина в присутствии антител к TF

**[00472]** В некоторых вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, не ингибируют образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA). В определенных вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, обеспечивают образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA).

**[00473]** В некоторых вариантах осуществления процент пикового образования тромбина (% пика Па) составляет по меньшей мере 40 % в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 50% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом



образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 99% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA).

**[00476]** В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 99 %, около 100 %, около 103 %, около 64 %, около 52 %, около 87 %, около 96 %, около 98 % и около 53 % по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 52 % до около 103 %. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 52 % или более

**[00477]** В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 50 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 99 %, около 100 %, около 103 %, около 67%, около 58%, около 89%, около 96 %, около 98 %, около 68 %, около 62 % и около 88% по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 58% до около 103 %. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 58% или более

**[00478]** В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 10 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 100%, около 99%, около 103 %, около 87%, около 83%, около 95%, около 98%, около 86% и около 96% по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 83% до около 103 %. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 83% или более

**[00479]** В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 108 %, около 105 %, около 111 %, около 58 %, около 47 %, около 91 %, около 103 %, около 109 %, около 107 % и около 45 % по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 45% до около 111%. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 45% или более

**[00480]** В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 50 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 107%, около 104%, около 114%, около 62%, около 49%, около 87%, около 105%, около 109 %, около 55% и около 92% по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 49% до около 114%. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 49% или более



некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 92% до около 109%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 92% или более

**[00486]** В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 50 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 108 %, около 103%, около 111 %, около 101%, около 97%, около 104%, около 106%, около 93%, около 96% и около 105% по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 93% до около 111%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 93% или более

**[00487]** В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 10 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 106%, около 109%, около 105%, около 104%, около 107%, около 99%, около 101% и около 102% по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 99% до около 109%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 99% или более

**[00488]** В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 110%, около 104%, около 106%, около 98%, около 95%, около 108%, около 107%, около 96%, около 92% и около 103% по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 92% до около 110%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 92% или более

**[00489]** В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 50 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 110%, около 106%, около 108%, около 103%, около 96%, около 109%, около 102%, около 104%, около 94% и около 98% по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 94% до около 110%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 94% или более

**[00490]** В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 10 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 107%, около 106%, около 110%, около 103%, около 100%, около 105%, около 102% и около 101% по сравнению с контрольными условиями без антитела, что определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 100% до около 110%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 100% или более

### **2.3.3. Конверсия FXa в присутствии антител к TF**

**[00491]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связывают TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa.

**[00492]** В некоторых вариантах осуществления процент превращения FXa (% FXa) составляет по меньшей мере 75 % в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 80% в присутствии



105%, около 108%, около 107%, около 97% и около 106% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FХа составляет от около 78% до около 108%. В некоторых вариантах осуществления такой % FХа составляет около 78% или более

**[00498]** В некоторых вариантах осуществления % FХа в присутствии 25 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 8**, выбирают из около 81%, около 89%, около 85%, около 109%, около 96%, около 97%, около 108%, около 104%, около 103%, около 112% и около 89% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FХа составляет от около 81% до около 112%. В некоторых вариантах осуществления такой % FХа составляет около 81% или более

**[00499]** В некоторых вариантах осуществления % FХа в присутствии 12,5 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 8**, выбирают из около 87%, около 89%, около 82%, около 99%, около 101%, около 98%, около 113%, около 106%, около 115%, около 110%, около 120%, около 85% и около 108% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FХа составляет от около 82% до около 120%. В некоторых вариантах осуществления такой % FХа составляет около 82% или более

#### **2.3.4. Связывание FVIIа в присутствии антител к TF**

**[00500]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связывают TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIа человека. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не конкурируют за связывание TF человека с FVIIа человека.

**[00501]** В некоторых вариантах осуществления процент связывания FVIIа (% FVIIа) составляет по меньшей мере 75 % в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

**[00502]** В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIа составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.







около 6%, около 5%, около 15%, около 21% и около 8% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % ИЛ-8 составляет от около 3% до около 22%. В некоторых вариантах осуществления такой % ИЛ-8 составляет около 22% или менее

**[00522]** В некоторых вариантах осуществления процент колониестимулирующего фактора гранулоцитов-макрофагов (% GM-CSF) в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 11**, выбирают из около 6%, около 7%, около 22%, около 20%, около 12%, около 19%, около 17%, около 25%, около 5%, около 14%, около 11% и около 10% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет от около 5% до около 25%. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет около 25% или менее

**[00523]** В некоторых вариантах осуществления % GM-CSF в присутствии 40 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 11**, выбирают из около 6%, около 7%, около 19%, около 15%, около 18%, около 16%, около 26%, около 5%, около 13%, около 11% и около 10% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет от около 5% до около 26%. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет около 26% или менее

**[00524]** В некоторых вариантах осуществления % GM-CSF в присутствии 16 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 11**, выбирают из около 6%, около 7%, около 22%, около 19%, около 14%, около 32%, около 17%, около 26%, около 5%, около 12%, около 13%, около 9%, около 11% и около 15% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет от около 5% до около 32%. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет около 32% или менее

**[00525]** В некоторых вариантах осуществления % GM-CSF в присутствии 6,4 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 11**, выбирают из около 8%, около 9%, около 24%, около 20%, около 18%, около 39%, около 34%, около 15%, около 21%, около 16%, около 17% и около 10% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет от около 8% до около 39%. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет около 39% или менее

### **2.3.6. Уменьшение размера поражения в модели хориональной неоваскуляризации свиней (CNV)**

**[00526]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, уменьшают размер поражения в модели хориональной неоваскуляризации свиней (CNV). В некоторых вариантах осуществления уменьшение размера поражения измеряют с помощью флуоресцентной ангиографии (ФА).

**[00527]** В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 5 % через 7 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 10% через 7 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 20% через 7 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 40% через 7 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 60% через 7 суток после введения антитела к TF.



**[00534]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, представляют собой моноспецифичные антитела.

**[00535]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, представляют собой мультиспецифичные антитела.

**[00536]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело, предложенное в данном документе, связывает более одного антигена. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает два антигена. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает три антигена. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает четыре антигена. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает пять антигенов.

**[00537]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело, предложенное в данном документе, связывает более одного эпитопа на антигене TF. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает два эпитопа на антигене TF. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает три эпитопа на антигене TF.

**[00538]** Многие конструкции мультиспецифичных антител известны в данной области техники, и представленные в данном документе антитела могут быть предоставлены в форме любой подходящей мультиспецифичной подходящей конструкции.

**[00539]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает иммуноглобулин, содержащий по меньшей мере две различные переменные области тяжелой цепи, каждая из которых спарена с общей переменной областью легкой цепи (т.е. «антитело с общей легкой цепью»). Общая переменная область легкой цепи образует отдельный антигенсвязывающий домен с каждой из двух различных переменных областей тяжелой цепи. См. Merchant et al., *Nature Biotechnol.*, 1998, 16:677-681, включенную посредством ссылки в полном объеме.

**[00540]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает иммуноглобулин, содержащий антитело или его фрагмент, присоединенный к одному или более N- или C-концам тяжелой или легкой цепей такого иммуноглобулина. См. Coloma and Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163, включенную посредством ссылки в полном объеме. В некоторых аспектах такое антитело включает четырехвалентное биспецифичное антитело.

**[00541]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает гибридный иммуноглобулин, содержащий по меньшей мере две различные переменные области тяжелой цепи и по меньшей мере две различные переменные области легкой цепи. См. Milstein and Cuello, *Nature*, 1983, 305:537-540 и Staerz and Bevan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83:1453-1457; каждый из которых посредством ссылки в полном объеме.

**[00542]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит цепи иммуноглобулина с изменениями, снижающими образование побочных продуктов, не обладающих мультиспецифичностью. В некоторых аспектах антитела содержат одну или более модификаций типа «выступы в отверстия», как описано в патентах США № US 5731168, включенный в качестве ссылки в полном объеме.

- [00543]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит цепи иммуноглобулина с одной или более электростатическими модификациями, способствующими сборке гетеро-мультимеров Fc. См. WO 2009/089004, включенную в полном объеме посредством ссылки.
- [00544]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит биспецифичную одноцепочечную молекулу. См. Traunecker et al., *EMBO J.*, 1991, 10:3655-3659; and Gruber et al., *J. Immunol.*, 1994, 152:5368-5374; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.
- [00545]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, соединенные полипептидным линкером, причем длина линкера выбрана так, чтобы способствовать сборке мультиспецифичных антител с желаемой мультиспецифичностью. Например, моноспецифичные scFv обычно образуются, когда переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи соединены полипептидным линкером из более чем 12 аминокислотных остатков. См. патенты США № 4946778 и 5132405, каждый из которых включен в качестве ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления уменьшение длины полипептидного линкера до менее 12 аминокислотных остатков предотвращает спаривание переменных доменов тяжелой и легкой цепей на одной и той же полипептидной цепи, тем самым позволяя спаривать переменные домены тяжелой и легкой цепи из одной цепи с комплементарными доменами на другой цепи. Таким образом, полученные антитела обладают мультиспецифичностью, причем специфичность каждого сайта связывания вносится более чем одной полипептидной цепью. Полипептидные цепи, содержащие переменные домены тяжелой и легкой цепей, которые соединены линкерами от 3 до 12 аминокислотных остатков, образуют преимущественно димеры (называемые диателами). С линкерами между 0 и 2 аминокислотными остатками предпочтительны тримеры (называемые триателами) и тетрамеры (называемые тетрателами). Однако точный тип олигомеризации, по-видимому, зависит от состава аминокислотных остатков и порядка переменного домена в каждой полипептидной цепи (например, V<sub>H</sub>-линкер-V<sub>L</sub> относительно V<sub>L</sub>-линкер-V<sub>H</sub>), в дополнение к длине линкера. Специалист может выбрать подходящую длину линкера на основе желаемой мультиспецифичности.
- [00546]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает диатело. См. Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90:6444-6448, включенную посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает триатело. См. Todorovska et al., *J. Immunol. Methods*, 2001, 248:47-66, включенную в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает тетратело. См. *id.*, включенную в полном объеме посредством ссылки.
- [00547]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает триспецифичное производное F(ab')<sub>3</sub>. См. Tutt et al. *J. Immunol.*, 1991, 147:60-69, включенную посредством ссылки в полном объеме.
- [00548]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает перекрестно-связанное антитело. См. патент США № 4676980; Brennan et al., *Science*, 1985, 229:81-83; Staerz, et al. *Nature*, 1985, 314:628-631 и EP 0453082; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.
- [00549]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит антигенсвязывающие домены, собранные лейциновыми застежками. См. Kostelny et al., *J. Immunol.*, 1992, 148:1547-1553, включенную посредством ссылки в полном объеме.

**[00550]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит домены комплементарного белка. В некоторых аспектах комплементарные белковые домены содержат заякоренный домен (AD) и домен димеризации и стыковки (DDD). В некоторых вариантах осуществления AD и DDD связываются друг с другом и, таким образом, обеспечивают сборку мультиспецифичных структур антител с помощью подхода «закрепить и заблокировать» (DNL). Могут быть собраны антитела со многими специфичностями, включая биспецифичные антитела, триспецифичные антитела, тетраспецифичные антитела, пентаспецифичные антитела и гексаспецифичные антитела. Мультиспецифичные антитела, содержащие домены комплементарных белков, описаны, например, в патенте США № 7521056; 7550143; 7534866 и 7527787; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

**[00551]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает Fab-антитело двойного действия (DAF), как описано в патентах публикации патента США № 2008/0069820, полностью включенной посредством ссылки.

**[00552]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает антитело, образованное восстановлением двух родительских молекул с последующим смешением двух исходных молекул и повторным окислением для сборки гибридной структуры. См. Carlring et al., *PLoS One*, 2011, 6:e22533, включенную посредством ссылки в полном объеме.

**[00553]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает DVD-Ig<sup>TM</sup>. DVD-Ig<sup>TM</sup> представляет собой иммуноглобулин с двойным переменным доменом, который может связываться с двумя или более антигенами. DVD-Igs<sup>TM</sup> описаны в патенте США № 7612181, полностью включенном посредством ссылки.

**[00554]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает DART<sup>TM</sup>. DART<sup>TM</sup> описаны в Moore et al., *Blood*, 2011, 117:454-451, включены посредством ссылки в полном объеме.

**[00555]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает DuoBody<sup>®</sup>. DuoBody<sup>®</sup> описаны в Labrijn et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, 110:5145-5150; Gramer et al., *mAbs*, 2013, 5:962-972 и Labrijn et al., *Nature Protocols*, 2014, 9:2450-2463; каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

**[00556]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичные антитела содержат фрагмент антитела, присоединенный к другому антителу или фрагменту. Присоединение может быть ковалентным или нековалентным. Когда присоединение является ковалентным, оно может быть в форме слитого белка или через химический линкер. Иллюстративные примеры мультиспецифичных антител, содержащих фрагменты антител, присоединенные к другим антителам, включают четырехвалентные биспецифичные антитела, в которых scFv слит с C-концом C<sub>H3</sub> от IgG. См. Coloma and Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163. Другие примеры включают антитела, в которых молекула Fab присоединена к константной области иммуноглобулина. См. Miler et al., *J. Immunol.*, 2003, 170:4854-4861, включенную посредством ссылки в полном объеме. Может быть использован любой подходящий фрагмент, включая любой из фрагментов, описанных в данном документе или известных в данной области техники.

**[00557]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает CovX-Body. CovX-Body описаны, например, в Doppalapudi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107:22611-22616, включенный посредством ссылки в полном объеме.

**[00558]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает антитело Fcab, в котором один или более антигенсвязывающих доменов введены в область Fc. Антитела Fcab описаны в Wozniak-Knopf et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 2010, 23:289-297, включенную в полном объеме посредством ссылки.

**[00559]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает антитело TandAb<sup>®</sup>. Антитела TandAb<sup>®</sup> описаны в Kipriyanov et al., *J. Mol. Biol.*, 1999, 293:41-56 и Zhukovsky et al., *Blood*, 2013, 122:5116, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

**[00560]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает тандемные Fab. Тандемные Fab описаны в WO 2015/103072, включенной в полном объеме посредством ссылки.

**[00561]** В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает Zybody<sup>™</sup>. Zybody<sup>™</sup> описаны в LaFleur et al., *mAbs*, 2013, 5:208-218, включены посредством ссылки в полном объеме.

## 2.6. Варианты гликозирования

**[00562]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, может быть изменено для увеличения, уменьшения или устранения степени его гликозирования.

Гликозирование полипептидов обычно либо является «N-связанным», либо «O-связанным».

**[00563]** «N-связанное» гликозирование относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагинового остатка. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, являются последовательностями распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозирования.

**[00564]** O-связанное гликозирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксиаминокислоте, чаще всего серину или треонину, хотя также могут быть использованы 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин.

**[00565]** Добавление или удаление сайтов N-связанного гликозирования в антитело, представленное в данном документе, или из него, может быть выполнено путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, что создается или удаляется одна или более из описанных выше трипептидных последовательностей. Добавление или удаление сайтов O-связанного гликозирования может осуществляться путем добавления, делеции или замены одного или более остатков серина или треонина в или к (в зависимости от случая) последовательности антитела.

**[00566]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит мотив гликозирования, который отличается от встречающегося в природе антитела. Любой подходящий природный мотив гликозирования может быть модифицирован в антителах, предложенных в данном документе. Структурные и гликозилирующие свойства иммуноглобулинов, например, известны в данной области техники и приведены, например, в Schroeder and Cavacini, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, 125:S41-52, включены посредством ссылки в полном объеме.

**[00567]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит область Fc IgG1 с модификацией олигосахарида, присоединенного к аспарагину 297 (Asn 297). Встречающиеся в природе антитела IgG1, продуцируемые клетками млекопитающих, как правило, содержат разветвленный, биантеннальный олигосахарид, который в общем случае присоединен посредством N-связи

к Asn297 домена C<sub>H2</sub> Fc-области. См. Wright et al., *TIBTECH*, 1997, 15:26-32, включенную посредством ссылки в полном объеме. Олигосахарид, присоединенный к Asn 297 может содержать различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в «стебле» биантеннальной олигосахаридной структуры.

**[00568]** В некоторых вариантах осуществления олигосахарид, присоединенный к Asn 297, модифицирован для создания антител с измененным АЗКЦ. В некоторых вариантах осуществления олигосахарид изменен для улучшения АЗКЦ. В некоторых вариантах осуществления олигосахарид изменен для уменьшения АЗКЦ.

**[00569]** В некоторых аспектах предложенное в данном документе антитело содержит домен IgG1 с пониженным содержанием фукозы в положении Asn 297 по сравнению с природным доменом IgG1. Известно, что такие домены Fc улучшают АЗКЦ. См. Shields et al., *J. Biol. Chem.*, 2002, 277:26733-26740, включенную посредством ссылки в полном объеме. В некоторых аспектах такие антитела не содержат фукозу в положении Asn 297. Количество фукозы можно определить с использованием любого подходящего метода, например, как описано в WO 2008/077546, включенную посредством ссылки в полном объеме.

**[00570]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, включает половинный олигосахарид, такой как двухантенный олигосахарид, присоединенный к области Fc антитела, которая разделена пополам GlcNAc. Такие варианты антител могут иметь пониженное фукозилирование и/или улучшенную функцию АЗКЦ. Примеры таких вариантов антител описаны, например, в WO 2003/011878; патенте США № 6602684 и публикации патента США № 2005/0123546; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

**[00571]** Другие иллюстративные варианты гликозилирования, которые могут быть включены в представленные в данном документе антитела, описаны, например, в публикациях патентов США № 2003/0157108, 2004/0093621, 2003/0157108, 2003/0115614, 2002/0164328, 2004/0093621, 2004/0132140, 2004/0110704, 2004/0110282, 2004/0109865; международных патентных публикациях № 2000/61739, 2001/29246, 2003/085119, 2003/084570, 2005/035586, 2005/035778; 2005/053742, 2002/031140; Okazaki et al., *J. Mol. Biol.*, 2004, 336:1239-1249 и Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.*, 2004, 87: 614-622, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

**[00572]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит область Fc, по меньшей мере, с одним остатком галактозы в олигосахариде, присоединенным к области Fc. Такие варианты антител могут иметь улучшенную функцию КЗЦ. Примеры таких вариантов антител описаны, например, в WO 1997/30087; WO 1998/58964 и WO 1999/22764, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

**[00573]** Примеры линий клеток, способных продуцировать дефукозилированные антитела, включают клетки CHO Lec13 с дефицитом фукозилирования белка (см. Ripka et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1986, 249:533-545; U.S. Pat. Pub. No. 2003/0157108; WO 2004/056312; каждый из которых полностью включен посредством ссылки), и линии клеток с нокаутом, такие как ген альфа-1,6-фукозилтрансферазы или клетки CHO с нокаутом FUT8 (см. Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.*, 2004, 87: 614-622; Kanda et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 2006, 94:680-688 и WO 2003/085107; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки).

**[00574]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, представляет собой агликозилированное антитело. Агликозилированное антитело можно получить с

использованием любого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых аспектах агликозилированное антитело получают путем модификации антитела для удаления всех сайтов гликозилирования. В некоторых аспектах сайты гликозилирования удаляются только из области Fc антитела. В некоторых аспектах агликозилированное антитело продуцируется путем экспрессии антитела в организме, который не способен к гликозилированию, например, *E. coli*, или путем экспрессии антитела в бесклеточной реакционной смеси.

**[00575]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет константную область с пониженной эффекторной функцией по сравнению с нативным антителом IgG1. В некоторых вариантах осуществления аффинность константной области Fc предложенного в данном документе антитела к рецептору Fc меньше, чем аффинность нативной константной области IgG1 к такому рецептору Fc.

## 2.7. Варианты аминокислотных последовательностей области Fc

**[00576]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит область Fc с одной или более аминокислотными заменами, вставками или делециями по сравнению с областью Fc природного происхождения. В некоторых аспектах такие замены, вставки или делеции дают антитела с измененной стабильностью, гликозилированием или другими характеристиками. В некоторых аспектах такие замены, вставки или делеции дают агликозилированные антитела.

**[00577]** В некоторых аспектах область Fc антитела, предложенного в данном документе, модифицирована для получения антитела с измененной аффинностью к рецептору Fc или антитела, которое является более иммунологически инертным. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе варианты антител обладают некоторыми, но не всеми эффекторными функциями. Такие антитела могут быть полезны, например, когда период полужизни антитела важен *in vivo*, но когда определенные эффекторные функции (например, активация комплемента и АЗКЦ) являются ненужными или вредными.

**[00578]** В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, представляет собой область Fc IgG4 человека, содержащую одну или более мутаций S228P и L235E, стабилизирующих шарнир. См. Aalberse et al., *Immunology*, 2002, 105:9-19, включенную посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления область Fc IgG4 содержит одну или более из следующих мутаций: E233P, F234V и L235A. См. Armour et al., *Mol. Immunol.*, 2003, 40:585-593, включенную посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления область Fc IgG4 содержит делецию в положении G236.

**[00579]** В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, представляет собой область Fc IgG1 человека, содержащую одну или более мутаций для снижения связывания рецептора Fc. В некоторых аспектах одна или более мутаций находятся в остатках, выбранных из S228 (например, S228A), L234 (например, L234A), L235 (например, L235A), D265 (например, D265A) и N297 (например, N297A). В некоторых аспектах антитело содержит мутацию PVA236. PVA236 означает, что аминокислотная последовательность ELLG от аминокислотного положения 233 до 236 IgG1 или EFLG IgG4 заменена на PVA. См. патент США № 9150641, включенный в полном объеме посредством ссылки.

**[00580]** В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, модифицирована, как описано в Armour et al., *Eur. J. Immunol.*, 1999, 29:2613-2624; WO

1999/058572 и/или заявка на патент СК № 98099518; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

**[00581]** В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, представляет собой область Fc IgG2 человека, содержащую одну или более мутаций A330S и P331S.

**[00582]** В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, имеет аминокислотную замену в одном или более положениях, выбранных из 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329. См. патент США № 6737056, включенный в полном объеме посредством ссылки. Такие мутанты Fc включают мутанты Fc с заменами в двух или более положениях аминокислот 265, 269, 270, 297 и 327, включая так называемый мутант Fc «DANA» с заменой остатков 265 и 297 на аланин. См. патент США № 7 332 581, включенный в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аланин в аминокислотном положении 265. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аланин в аминокислотном положении 297.

**[00583]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит область Fc с одной или более аминокислотными заменами, которые улучшают АЗКЦ, например заменой в одном или более положениях 298, 333 и 334 области Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит область Fc с одной или более аминокислотными заменами в положениях 239, 332 и 330, как описано в Lazar et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, 103:4005-4010, включенной посредством ссылки в полном объеме.

**[00584]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит одно или более изменений, которые улучшают или уменьшают связывание C1q и/или КЗЦ. См. патент США № 6194551; WO 99/51642 и Idusogie et al., *J. Immunol.*, 2000, 164:4178-4184; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

**[00585]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит одно или более изменений для увеличения периода полужизни. Антитела с увеличенным периодом полужизни и улучшенным связыванием с неонатальным рецептором Fc (FcRn) описаны, например, в Hinton et al., *J. Immunol.*, 2006, 176:346-356 и публикации патента США № 2005/0014934; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Такие варианты Fc включают варианты с заменами в одном или более остатках области Fc IgG: 238, 250, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 314, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 428 и 434.

**[00586]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит один или более вариантов области Fc, как описано в патентах США № 7371826, 5648260 и 5624821; Duncan and Winter, *Nature*, 1988, 322:738-740 и WO 94/29351; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

## 2.8. Пироглутамат

**[00587]** Как известно в данной области техники, как глутамат (E), так и глутамин (Q) на N-концах рекомбинантных белков могут спонтанно циклизоваться *in vitro* и *in vivo* с образованием пироглутамата (pE). См. Liu et al., *J. Biol. Chem.*, 2011, 286:11211-11217, включенную посредством ссылки в полном объеме.

**[00588]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены антитела, содержащие полипептидную последовательность, имеющую остаток pE в N-концевом положении. В некоторых

вариантах осуществления в данном документе предложены антитела, содержащие полипептидную последовательность, в которой N-концевой остаток преобразован из Q в pE. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены антитела, содержащие полипептидную последовательность, в которой N-концевой остаток преобразован из E в pE.

### **2.9. Варианты антител с модифицированным цистеином**

**[00589]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены антитела с модифицированным цистеином, также известные как «thioMAb», в которых один или более остатков антитела заменены остатками цистеина. В конкретных вариантах осуществления замещенные остатки встречаются на доступных для растворителя участках антитела. Путем замены таких остатков цистеином реактивные тиоловые группы вводятся в доступные для растворителя участки антитела и могут использоваться для конъюгирования антитела с другими фрагментами, такими как фрагменты лекарственного средства или фрагменты линкер-лекарственное средство, например, для создания иммуноконъюгата.

**[00590]** В некоторых вариантах осуществления любой один или более из следующих остатков могут быть заменены цистеином: V205 легкой цепи; A118 тяжелой цепи области Fc; и S400 тяжелой цепи области Fc. Антитела, с модифицированным цистеином, могут быть получены, как описано, например, в патентах США № 7521541, который в полном объеме включен посредством ссылки.

### **3. Конъюгаты антител к TF-лекарственное средство**

**[00591]** В данном документе предложены конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC), содержащие антитело, которое специфически связывается с TF, и цитотоксический агент. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент непосредственно связан с антителом к TF. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент опосредованно связан с антителом к TF.

**[00592]** В некоторых вариантах осуществления ADC дополнительно содержат линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер связывает антитело к TF с цитотоксическим агентом.

**[00593]** В некоторых осуществления ADC, предложенные в данном документе, имеют соотношение лекарственное средство-антитело (DAR), равное 1. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенные в данном документе, имеют DAR, равное 2. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенные в данном документе, имеют DAR, равное 3. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенные в данном документе, имеют DAR равное 4. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенные в данном документе, имеют DAR, равное 5. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенные в данном документе, имеют DAR 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 2-3, 2-4, 2-5, 3-4, 3-5, 4-5, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенные в данном документе, имеют DAR больше 5. В некоторых вариантах осуществления DAR измеряется с помощью УФ/видимой спектроскопии, хроматографии гидрофобного взаимодействия (HIC) и/или разделения жидкостной хроматографией на обращенной фазе с детектированием по времени пролета и масс-характеристикой (RP-UPLC / масс-спектрометрия).

### **4. Способы получения антител к TF**

#### 4.1. Получение антигена TF

**[00594]** Антиген TF, используемый для выделения предложенных в данном документе антител, может быть интактным TF или фрагментом TF. Антиген TF может быть, например, в форме выделенного белка или белка, экспрессированного на поверхности клетки.

**[00595]** В некоторых вариантах осуществления антиген TF представляет собой не встречающийся в природе вариант TF, такой как белок TF, имеющий аминокислотную последовательность или посттрансляционную модификацию, которая не встречается в природе.

**[00596]** В некоторых вариантах осуществления антиген TF усекается путем удаления, например, внутриклеточных или трансмембранных последовательностей или сигнальных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления антиген TF слит на своем C-конце с доменом Fc IgG1 человека или полигистидиновой меткой.

#### 4.2. Способы получения моноклональных антител

**[00597]** Моноклональные антитела могут быть получены, например, с использованием метода гибридомы, впервые описанного Kohler et al., *Nature*, 1975, 256:495-497 (включенного в полном объеме посредством ссылки) и/или методами рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4816567, включенный посредством ссылки в полном объеме). Моноклональные антитела также могут быть получены, например, с использованием библиотек фагового дисплея (см., например, патент США № 8258082, который полностью включен посредством ссылки) или, альтернативно, с использованием библиотек на основе дрожжей (см., например, патент США № 8691730, что полностью включено в качестве ссылки).

**[00598]** В гибридном способе мышь или другое подходящее животное-хозяина, иммунизируют, чтобы вызвать выработку лимфоцитов, которые вырабатывают или способны вырабатывать антитела, которые будут специфически связываться с белком, используемым для иммунизации. В альтернативном варианте лимфоциты можно иммунизировать *in vitro*. Лимфоциты затем сливают с клетками миеломы, используя подходящий агент для слияния, такой как полиэтиленгликоль, для получения гибридомной клетки. См. Goding J.W., *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* 3<sup>rd</sup> ed. (1986) Academic Press, San Diego, CA, включенную посредством ссылки в полном объеме.

**[00599]** Гибридные клетки высевают и выращивают в подходящей культуральной среде, которая содержит одно или более веществ, которые ингибируют рост или выживаемость неслитых, родительских клеток миеломы. Например, если в родительских клетках миеломы отсутствует фермент гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRT или HPRT), культуральная среда для гибридом, как правило, содержит гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), которые препятствуют росту клеток с дефицитом HGPRT.

**[00600]** Пригодными для использования миеломными клетками являются те, которые эффективно сливаются, поддерживают стабильную продукцию антител на высоком уровне выбранными антителопродуцирующими клетками и являются чувствительными к условиям среды, таким как присутствие или отсутствие среды HAT. Среди них предпочтительными линиями миеломных клеток являются линии миеломы мышей, такие как линии, полученные из опухолей мышей MOP-21 и MC-11 (доступные в Центре распределения клеток Института Солка, Сан-Диего, штат Калифорния), и SP-2 или X63-Ag8. -653 клеток (доступны из Американской коллекции типовых культур, Роквилл, штат Мэриленд).

Линии клеток миеломы человека и гетеромиеломы мышей и человека также были описаны как пригодные для получения человеческих моноклональных антител. См., например, Kozbor, *J. Immunol.*, 1984, 133:3001, включенную посредством ссылки в полном объеме.

**[00601]** После идентификации клеток гибридомы, которые вырабатывают антитела с необходимой специфичностью, аффинностью и/или биологической активностью, клоны можно субклонировать с помощью процедур предельного разведения и выращивать стандартными способами. См. Goding, *выше*. Подходящие для этих целей культуральные среды включают, например среду, D-MEM или RPMI-1640. Кроме того, гибридомные клетки можно выращивать *in vivo* как асцитные опухоли у животных.

**[00602]** ДНК, кодирующую моноклональные антитела, могут быть легко выделены и секвенированы с помощью традиционных процедур (например, используя олигонуклеотидные зонды, способные специфически связываться с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи моноклональных антител). Таким образом, гибридомные клетки могут служить полезным источником ДНК-кодирующих антител с желаемыми свойствами. После выделения ДНК можно помещать в экспрессионные векторы, которые затем трансфицируют в клетки-хозяев, такие как бактерии (например, *E. coli*), дрожжи (например, *Saccharomyces* или *Pichia sp.*), клетки обезьян COS, клетки яичника китайского хомяка (CHO) или клетки миеломы, которые в ином случае не вырабатывают антитела, чтобы осуществить синтез моноклональных антител.

#### 4.3. Способы получения химерных антител

**[00603]** Иллюстративные способы получения химерных антител описаны, например, в патенте США № 4816567 и Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, 81:6851-6855; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело создано с использованием рекомбинантной методики и содержит нечеловеческую вариабельную область (например, вариабельную область, полученную от мыши, крысы, хомяка, кролика или отличного от человека примата, такого как обезьяна) с константной областью человека.

#### 4.4. Способы получения гуманизированных антител

**[00604]** Гуманизированные антитела могут быть получены путем замены большей части или всех структурных частей нечеловеческого моноклонального антитела соответствующими последовательностями человеческого антитела. Следовательно, создается гибридная молекула, в которой только антигенспецифическая переменная или CDR состоит из нечеловеческой последовательности. Методы получения гуманизированных антител включают методы, описанные, например, в Winter and Milstein, *Nature*, 1991, 349:293-299; Rader et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1998, 95:8910-8915; Steinberger et al., *J. Biol. Chem.*, 2000, 275:36073-36078; Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989, 86:10029-10033; и патенты США № 5585089, 5693761, 5693762 и 6180370; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме.

#### 4.5. Способы получения антител человека

**[00605]** Антитела человека могут быть получены различными методами, известными в данной области техники, например, с использованием трансгенных животных (например, гуманизированных мышей). См., например, Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993, 90:2551; Jakobovits et al., *Nature*, 1993, 362:255-258; Bruggermann et al., *Year in Immuno.*, 1993, 7:33; и патенты США № 5591669, 5589369 и 5545807; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме. Антитела человека также могут быть

получены из библиотек фагового дисплея (см., например, Hoogenboom et al., *J. Mol. Biol.*, 1991, 227:381-388; Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 1991, 222:581-597 и патенты США № 5565332 и 5573905; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме). Антитела человека также могут быть созданы активированными *in vitro* В-клетками (см., например, патенты США № 5567610 и 5229275, каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме). Антитела человека также могут быть получены из библиотек на основе дрожжей (см., например, патент США № 8691730, полностью включенный посредством ссылки в полном объеме).

#### 4.6. Способы получения фрагментов антител

**[00606]** Предложенные в данном документе фрагменты антител могут быть получены любым подходящим способом, включая иллюстративные способы, описанные в данном документе, или методы, известные в данной области техники. Подходящие методы включают рекомбинантные методы и протеолитическое расщепление целых антител. Иллюстративные методы получения фрагментов антител описаны, например, в Hudson et al., *Nat. Med.*, 2003, 9:129-134, включенном посредством ссылки в полном объеме. Способы получения антител scFv описаны, например, в Plückthun, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); WO 93/16185 и патентам США № 5571894 и 5587458; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме.

#### 4.7. Способы получения альтернативных каркасов

**[00607]** Альтернативные каркасы, предложенные в данном документе, могут быть получены любым подходящим способом, включая иллюстративные способы, описанные в данном документе, или способы, известные в данной области техники, например, способы получения аднектинов<sup>™</sup> описаны в Emanuel et al., *mAbs*, 2011, 3:38-48, включенная посредством ссылки в полном объеме. Способы получения iMab описаны в публикации патентов США № 2003/0215914, полностью включенной посредством ссылки. Способы получения антикалинов<sup>®</sup> описаны в Vogt and Skerra, *Chem. Biochem.*, 2004, 5:191-199, включенном посредством ссылки в полном объеме. Способы получения доменов Kunitz описаны в Wagner et al., *Biochem. & Biophys. Res. Comm.*, 1992, 186:118-1145, включенную в полном объеме посредством ссылки. Способы получения аптамеров тиоредоксинового пептида представлены в Geyer and Brent, *Meth. Enzymol.*, 2000, 328:171-208, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения аффител представлены в Fernandez, *Curr. Opinion in Biotech.*, 2004, 15:364-373, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения DARPin представлены в Zahnd et al., *J. Mol. Biol.*, 2007, 369:1015-1028, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения аффилин представлены в Ebersbach et al., *J. Mol. Biol.*, 2007, 372:172-185, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения тетранектинов представлены в Graversen et al., *J. Biol. Chem.*, 2000, 275:37390-37396, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения авимеров представлены в Silverman et al., *Nature Biotech.*, 2005, 23:1556-1561, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения финомеров представлены в Silacci et al., *J. Biol. Chem.*, 2014, 289:14392-14398, включенной в полном объеме посредством ссылки.

**[00608]** Дополнительная информация об альтернативных каркасах представлена в Binz et al., *Nat. Biotechnol.*, 2005 23:1257-1268; Skerra, *Current Opin. in Biotech.*, 2007 18:295-304; каждая из которых включена в полном объеме посредством ссылки.

#### 4.8. Способы получения мультиспецифичных антител

**[00609]** Предложенные в данном документе мультиспецифичные антитела могут быть получены любым подходящим методом, включая иллюстративные способы, описанные в данном документе, или методы, известные в данной области техники. Методы получения антител с общей легкой цепью описаны в Merchant et al., *Nature Biotechnol.*, 1998, 16:677-681, включенной посредством ссылки в полном объеме. Методы получения четырехвалентных биспецифичных антител описаны в Coloma and Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163, включенной в полном объеме посредством ссылки. Методы получения гибридных иммуноглобулинов описаны в Milstein and Cuello, *Nature*, 1983, 305:537-540 и Staerz and Bevan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83:1453-1457; каждый из которых полностью включен в полном объеме посредством ссылки. Способы получения иммуноглобулинов с модификацией «выступ во впадину» описаны в патенте США № US 5731168, включенном в полном объеме посредством ссылки. Способы получения иммуноглобулинов с электростатическими модификациями представлены в WO 2009/089004, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения биспецифичных одноцепочечных антител описаны в Traunecker et al., *EMBO J.*, 1991, 10:3655-3659 и Gruber et al., *J. Immunol.*, 1994, 152:5368-5374; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Способы получения одноцепочечных антител, длина линкера которых может варьировать, описаны в патентах США № 4946778 и 5132405, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Способы получения диател описаны в Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90:6444-6448, включенной в полном объеме посредством ссылки. Методы создания триател и тетрател описаны в Todorovska et al., *J. Immunol. Methods*, 2001, 248:47-66, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения триспецифичных производных F(ab')<sub>3</sub> описаны в Tutt et al. *J. Immunol.*, 1991, 147:60-69, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения поперечно-сшитых антител описаны в патенте США № 4676980; Brennan et al., *Science*, 1985, 229:81-83; Staerz, et al. *Nature*, 1985, 314:628-631 и EP 0453082; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Способы создания антигенсвязывающих доменов, собранных лейциновыми застежками-молниями, описаны в Kostelny et al., *J. Immunol.*, 1992, 148:1547-1553, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения антител с использованием подхода DNL описаны в патентах США № 7521056; 7550143; 7534866; и 7527787; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Способы получения гибридов молекул антител и молекул, не являющихся антителами, описаны в WO 93/08829, включенной в полном объеме посредством ссылки, в качестве примеров таких антител. Способы получения антител DAF описаны в публикации патента США № 2008/0069820, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения антител путем восстановления и окисления описаны в Carlring et al., *PLoS One*, 2011, 6:e22533, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения DVD-Ig<sup>TM</sup> описаны в патенте США № 7612181, полностью включенном посредством ссылки. Способы получения DART<sup>TM</sup> описаны в Moore et al., *Blood*, 2011, 117:454-451, включенной посредством ссылки в полном объеме. Способы получения DuoBody<sup>®</sup> описаны в Labrijn et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, 110:5145-5150; Gramer et al., *mAbs*, 2013, 5:962-972 и Labrijn et al., *Nature Protocols*, 2014, 9:2450-2463; каждый из которых полностью включен посредством ссылки. Способы получения антител, содержащих scFv, слитые с С-концом C<sub>H3</sub> из IgG, описаны в Coloma and Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163, включенной посредством ссылки в полном объеме. Способы получения антител, в которых молекула Fab присоединена к константной области иммуноглобулина, описаны в Miller et

al., *J. Immunol.*, 2003, 170:4854-4861, включенной посредством ссылки в полном объеме. Способы получения CovX-Body описаны в Doppalapudi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107:22611-22616, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения антител Fcab описаны в Wozniak-Knopf et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 2010, 23:289-297, включенную в полном объеме посредством ссылки. Способы получения антител TandAb® описаны в Kipriyanov et al., *J. Mol. Biol.*, 1999, 293:41-56 и Zhukovsky et al., *Blood*, 2013, 122:5116, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Способы получения тандемных Fab описаны в WO 2015/103072, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения Zybody™ описаны в LaFleur et al., *mAbs*, 2013, 5:208-218, включенной посредством ссылки в полном объеме.

#### 4.9. Способы получения вариантов

**[00610]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, представляет собой вариант родительского антитела с созревшей аффинностью, который может быть получен, например, с использованием методов созревания аффинности на основе фагового дисплея. Вкратце, один или более остатков CDR могут быть мутированы, и варианты антитела или их части могут располагаться на фаге и подвергаться скринингу на аффинность. Такие изменения могут быть сделаны в «горячих точках» CDR или остатках, кодируемых кодонами, которые подвергаются мутации с высокой частотой в процессе соматического созревания (см. Chowdhury, *Methods Mol. Biol.*, 2008, 207:179-196, включенную посредством ссылки в полном объеме) и/или остатки, которые связываются с антигеном.

**[00611]** Для внесения вариабельности в полинуклеотидную последовательность (и), кодирующую антитело, можно использовать любой подходящий метод, включая подверженную ошибкам ПЦР, перетасовку цепей и олигонуклеотид-направленный мутагенез, такой как тринуклеотид-направленный мутагенез (TRIM). В некоторых аспектах несколько остатков CDR (например, 4-6 остатков за раз) рандомизированы. Остатки CDR, участвующие в связывании антигена, могут быть специфически идентифицированы, например, с использованием аланинового сканирующего мутагенеза или моделирования. CDR-H3 и CDR-L3, в частности, часто становятся мишенью для мутации.

**[00612]** Введение разнообразия в вариабельные области и/или CDR можно использовать для создания вторичной библиотеки. Затем проводится скрининг вторичной библиотеки для выявления вариантов антител с улучшенной аффинностью. Созревание аффинности путем конструирования и повторного выбора из вторичных библиотек описано, например, в Hoogenboom et al., *Methods in Molecular Biology*, 2001, 178:1-37, включенной посредством ссылки в полном объеме.

#### 4.10. Векторы, клетки-хозяева и рекомбинантные методы

**[00613]** Также предложены выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела к TF, векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, и клетки-хозяева, содержащие векторы и нуклеиновые кислоты, а также рекомбинантные методы получения антител.

**[00614]** Для рекомбинантного получения антитела нуклеиновая кислота(ы), кодирующая его, может быть выделена и вставлена в реплицируемый вектор для дальнейшего клонирования (т.е. амплификации ДНК) или экспрессии. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота может быть получена путем гомологичной рекомбинации, например, как описано в патенте США № 5204244, включенном в качестве ссылки в полном объеме.

**[00615]** В данной области известно много различных векторов. Компоненты вектора обычно включают один или более из следующего: сигнальная последовательность, начало репликации, один или более маркерных генов, энхансерный элемент, промотор и последовательность терминации транскрипции, например, как описано в патенте США №5534615, включенном в качестве ссылки в полном объеме.

**[00616]** Ниже приведены иллюстративные примеры подходящих клеток-хозяев. Эти клетки-хозяева не предназначены для ограничения, и любая подходящая клетка-хозяин может быть использована для получения предложенных в данном документе антител.

**[00617]** Подходящие клетки-хозяева включают любые прокариотические (например, бактериальные), низшие эукариотические (например, дрожжевые) или высшие эукариотические (например, клетки млекопитающих) клетки. Пригодные прокариотические клетки для данной цели включают без ограничения эубактерии, например, грамотрицательные или грамположительные бактерии, такие как *Escherichia (E. coli)*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella (S. typhimurium)*, *Serratia (S. marcescans)*, *Shigella*, *Bacilli (B. subtilis и B. licheniformis)*, *Pseudomonas (P. aeruginosa)* и *Streptomyces*. Один пригодный хозяин для клонирования *E. coli* представляет собой *E. coli* 294, хотя другие штаммы, такие как *E. coli* В, *E. coli* Х1776 и *E. coli* W3110 также подходят.

**[00618]** В дополнение к прокариотам, эукариотические микроорганизмы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, также являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела к ТФ. *Saccharomyces cerevisiae* или обычные пекарские дрожжи, представляет собой обычно используемый низший эукариотический микроорганизм-хозяин. Тем не менее, ряд других родов, видов и штаммов доступны и пригодны, например, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces (K. lactis, K. fragilis, K. bulgaricus, K. wickerhamii, K. waltii, K. drosophilum, K. thermotolerans и K. marxianus)*, *Yarrowia*, *Pichia pastoris*, *Candida (C. albicans)*, *Trichoderma reesia*, *Neurospora crassa*, *Schwanniomyces (S. occidentalis)*, и нитчатые грибы, такие как, например, *Penicillium*, *Tolypocladium* и *Aspergillus (A. nidulans и A. niger)*.

**[00619]** Подходящие клетки-хозяева млекопитающих включают клетки COS-7, клетки НЕК293, клетки почек детенышей хомячка (ВНК), яичники китайского хомячка (СНО), клетки сертоли мыши, клетки почек африканских зеленых мартышек (VERO-76) и т.п.

**[00620]** Клетки-хозяева, используемые для получения антитела к ТФ по данному изобретению, можно культивировать в различных средах. Коммерчески доступные среды, такие как, например, среда Хэма F10, минимальная поддерживающая среда (MEM), RPMI-1640 и модифицированная Дюльбекоо среда Игла (DMEM), подходят для культивирования клеток-хозяев. Кроме того, может быть использована любая из сред, описанных в Nam et al., *Meth. Enz.*, 1979, 58:44; Barnes et al., *Anal. Biochem.*, 1980, 102:255 и патентах США № 4767704, 4657866, 4927762, 4560655 и 5122469, или WO 90/03430 и WO 87/00195. Каждый из вышеуказанных источников полностью включен в данный документ посредством ссылки.

**[00621]** Любая из этих сред может быть при необходимости дополнена гормонами и/или другими факторами роста (такими как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), солями (такими как хлорид натрия, кальций, магний и фосфат), буферами (такими как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин и тимидин), антибиотиками, микроэлементами (определяемые как неорганические соединения, обычно присутствующими в конечных концентрациях в микромолярном диапазоне) и глюкозой или эквивалентными источниками энергии. Любые другие необходимые добавки также могут быть включены в подходящих концентрациях, которые известны специалистам в данной области техники.

**[00622]** Условия культивирования, такие как температура, pH и т.п., являются теми, которые ранее использовались с клеткой-хозяином, выбранной для экспрессии, и будут очевидны обычному специалисту в данной области техники.

**[00623]** При использовании рекомбинантных методов антитело можно продуцировать внутриклеточно, в периплазматическом пространстве или непосредственно секретировать в среду. Если антитело продуцируется внутриклеточно, на первом этапе частицы дебриса, будь то клетки-хозяева или лизированные фрагменты, удаляются, например, центрифугированием или ультрафильтрацией. Например, Carter et al. (*Bio/Technology*, 1992, 10:163-167, включенная посредством ссылки в полном объеме) описывает процедуру выделения антител, которые секретированы в периплазматическое пространство *E. coli*. Вкратце, клеточную пасту размораживают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), EDTA и фенолметилсульфонилфторида (PMSF) в течение около 30 минут. Остатки клеток можно удалить центрифугированием.

**[00624]** В некоторых вариантах осуществления антитело продуцируют в бесклеточной системе. В некоторых аспектах бесклеточная система представляет собой систему транскрипции и трансляции *in vitro*, как описано в Yin et al., *mAbs*, 2012, 4:217-225, включенной посредством ссылки в полном объеме. В некоторых аспектах бесклеточная система использует бесклеточный экстракт эукариотической клетки или прокариотической клетки. В некоторых аспектах прокариотическая клетка представляет собой *E. coli*. Бесклеточная экспрессия антитела может быть полезной, например, когда антитело накапливается в клетке в виде нерастворимого агрегата или когда выходы от периплазматической экспрессии низкие.

**[00625]** Когда антитело секретировано в среду, супернатанты таких экспрессионных систем обычно сначала концентрируют с использованием коммерчески доступного фильтра для концентрации белка, например, установки ультрафильтрации Amicon® или Millipore® Pellicon®. Ингибитор протеазы, такой как PMSF, может быть включен в любую из вышеупомянутых стадий для ингибирования протеолиза, а антибиотики могут быть включены для предотвращения роста случайных загрязняющих веществ.

**[00626]** Композиция антител, полученная из клеток, может быть очищена с использованием, например, хроматографии на гидроксилпатите, гель-электрофореза, диализа и аффинной хроматографии, причем аффинная хроматография является особенно полезным методом очистки. Пригодность белка А в качестве аффинного лиганда зависит от вида и изоформа любого домена Fc иммуноглобулина, присутствующего в антителе. Белок А можно использовать для очистки антител, которые содержат тяжелые цепи  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$  или  $\gamma 4$  человека (Lindmark et al., *J. Immunol. Meth.*, 1983, 62:1-13, включенная в полном объеме посредством ссылки). Белок G полезен для всех изоформ мыши и для  $\gamma 3$  человека (Guss et al., *EMBO J.*, 1986, 5:1567-1575, включена посредством ссылки в полном объеме).

**[00627]** Матрица, к которой присоединен аффинный лиганд, чаще всего представляет собой агарозу, но доступны и другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с контролируемыми порами или поли (стиролдивинил) бензол, обеспечивают более высокие скорости потока и более короткое время обработки, чем может быть достигнуто с агарозой. Если антитело содержит домен C<sub>H3</sub>, смола BakerBond ABX® может быть полезна для очистки.

**[00628]** Также доступны и другие методы очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, обращенно-фазовая ВЭЖХ, хроматография на диоксиде кремния, хроматография на гепарин-сефарозе®, хроматофокусирование, SDS-PAGE и осаждение сульфатом аммония может применяться специалистом в данной области техники.

**[00629]** После любой стадии предварительной очистки смесь, содержащая представляющее интерес антитело и примеси, может быть подвергнута хроматографии гидрофобного взаимодействия с низким рН с использованием элюирующего буфера при рН от около 2,5 до около 4,5, обычно проводимая при низких концентрациях соли (например, от около 0 до около 0,25 М соли).

## 5. Цитотоксические агенты

**[00630]** В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе ADC содержат цитотоксический агент. Предлагаемые в данном документе цитотоксические агенты включают различные противоопухолевые или противораковые агенты, известные в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления цитотоксические агенты вызывают разрушение раковых клеток. В некоторых вариантах осуществления цитотоксические агенты подавляют рост или пролиферацию раковых клеток.

**[00631]** Подходящие цитотоксические агенты включают антиангиогенные агенты, проапоптотические агенты, антимиотические агенты, антикиназные агенты, алкилирующие агенты, гормоны, агонисты гормонов, антагонисты гормонов, хемокины, лекарственные препараты, пролекарства, токсины, ферменты, антиметаболиты, антибиотики, алкалоиды и радиоактивные изотопы.

**[00632]** В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент включает, по меньшей мере, одно из: калихеамицин, камптотecin, карбоплатин, иринотекан, SN-38, карбоплатин, камптотекан, циклофосфамид, цитарабин, дакарбазин, доцетаксел, дактиномицин, даунорубицин, доксорубицин, эдоксорубицин, от доксорубицина, от доксорубицина, майтансиноид, аналог майтансиноида, пирролобензодиазепин, таксоид, дуокармицин, доластатин ауристин и их производные. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой монометилауристин Е (ММАЕ).

**[00633]** В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой диагностический агент, такой как радиоактивный изотоп, хелатор металлов, фермент, флуоресцентное соединение, биолюминесцентное соединение или хемилюминесцентное соединение.

**[00634]** В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой улучшенный профиль безопасности цитотоксической полезной нагрузки, например ХМТ-1267 и другие цитотоксические полезные нагрузки, описанные в Trail et al., *Pharmacol Ther*, 2018, 181:126-142.

## 6. Линкеры

**[00635]** В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе ADC содержат линкер. В некоторых вариантах осуществления несвязанный линкер содержит два реактивных конца: реактивные концы конъюгации антитела и реактивные концы конъюгации цитотоксического агента. Реакционноспособный конец линкера для конъюгации антител может быть конъюгирован с антителом через цистеиновую тиольную или лизиновую аминогруппу на антителе, обычно тиол-реактивную группу, такую как двойная связь, уходящая группа, такую как хлор, бром или йод, R-сульфанильную группу или сульфонильную группу или амино-реактивную группу, такую как карбоксильная группа. Конъюгирование с цитотоксическим агентом реактивного конца линкера может быть конъюгировано с цитотоксическим агентом посредством образования амидной связи с основной аминогруппой или карбоксильной группой цитотоксина, обычно с карбоксильной или основной аминогруппой.

**[00636]** В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой нерасщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент высвобождается из ADC в клетке.

**[00637]** Подходящие линкеры ADC включают лабильные линкеры, кислотолабильные линкеры (например, гидразоновые линкеры), фотоллабильные линкеры, заряженные линкеры, дисульфидсодержащие линкеры, чувствительные к пептидазе линкеры (например, пептидные линкеры, содержащие аминокислоты, например, валин и/или цитруллин, такие как цитруллин-валин или фенилаланин-лизин),  $\beta$ -глюкуронид-линкеры (См., например, Graaf et al., *Curr Pharm Des*, 2002, 8:1391-1403), диметилвые линкеры (См., например, Chari et al., *Cancer Research*, 1992, 52:127-131; патент США № 5208020), тиозфирные линкеры или гидрофильные линкеры (См., например, Kovtun et al., *Cancer Res.*, 2010, 70:2528-2537). В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент конъюгирован с антителом с использованием линкера валин-цитруллин (vc).

## 7. Способы получения конъюгатов антитело-лекарственное средство

**[00638]** Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) можно создавать, используя ряд бифункциональных агентов для сопряжения белков, таких как BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC, сульфо-SMPB и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат). Например, иммунотоксин ридин может быть получен, как описано в Vitetta et al., *Science*, 1987, 238:1098. Кроме того, ADC могут быть получены с использованием любых подходящих методов, описанных в данной области техники, например, в *Bioconjugate Techniques*, 2nd Ed., G. T. Hermanson, ed., Elsevier, San Francisco, 2008.

**[00639]** В некоторых вариантах осуществления ADC получают с помощью методов сайт-специфической конъюгации, что приводит к гомогенной загрузке лекарственного средства и позволяет избежать субпопуляций ADC с измененными антигенсвязыванием или фармакокинетикой. В некоторых вариантах осуществления создают «thiomab», содержащие цистеиновые замены в позициях в тяжелой и легкой цепях, которые обеспечивают наличие реактивных тиольных групп, которые не нарушают сворачивание и сборку иммуноглобулина или не меняют связывание антигена (Junutula et al., *J. Immunol. Meth.*, 2008, 332: 41-52; Junutula et al., *Nat. Biotechnol.*, 2008, 26: 925-932, ). В некоторых вариантах осуществления в последовательность антитела котрансляционно вставляют селеноцистеин путем перекодировки стоп-кодона UGA от терминации до вставки селеноцистеина, что позволяет осуществлять сайт-специфическую ковалентную конъюгацию в нуклеофильной селенольной группе селеноцистеина в присутствии других природных аминокислот (См., например, Hofer et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, 105:12451-12456; Hofer et al., *Biochemistry*, 2009, 48(50):12047-12057). В некоторых вариантах осуществления ADC были синтезированы, как описано в Behrens et al., *Mol Pharm*, 2015, 12:3986-98.

## 8. Анализы

**[00640]** Для идентификации и характеристики антител к TF и ADC к TF, предложенные в данном документе, можно использовать различные анализы, известные в данной области техники.

### 8.1. Анализы связывания, конкуренции и картирования эпитопа

**[00641]** Специфическая антигенсвязывающая активность представленных в данном документе антител может быть оценена любым подходящим методом, включая использование SPR, BLI, RIA и MSD-SET, как описано в другом месте в данном раскрытии. Кроме того, антигенсвязывающая активность может быть оценена с помощью анализов ИФА и вестерн-блоттинга.

**[00642]** Анализы для измерения конкуренции между двумя антителами или антителом и другой молекулой (например, одним или более лигандами TF) описаны в другом месте в данном описании и, например, в Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y, включенном в полном объеме посредством ссылки.

**[00643]** Анализы для картирования эпитопов, с которыми связываются предложенные в данном документе антитела, описаны, например, в Morris "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66, 1996, Humana Press, Totowa, N.J., включенном в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления эпитоп определяется посредством конкуренцией пептидов. В некоторых вариантах осуществления эпитоп определяется посредством масс-спектрометрии. В некоторых вариантах осуществления эпитоп определяется посредством кристаллографии.

### **8.2. Анализы образования тромбина, превращения FXa и передачи сигналов TF**

**[00644]** Образование тромбина в присутствии предложенных в данном документе антител может быть определено с помощью анализа образования тромбина (TGA), как описано в другом месте в данном описании.

**[00645]** Анализы для измерения превращения FXa в присутствии предложенных в данном документе антител описаны в другом месте в данном описании.

**[00646]** Ингибирование передачи сигналов TF можно определить путем измерения продукции цитокинов, регулируемых передачей сигналов TF, таких как IL8 и GM-CSF. Анализы для определения уровня IL8 и/или GM-CSF предложены в другом месте в данном описании и, например, в Hjortoe et al., *Blood*, 2004, 103:3029-3037.

### **8.3. Анализы эффекторных функций**

**[00647]** Эффекторная функция после лечения антителами, предложенными в данном документе, может быть оценена с использованием различных анализов *in vitro* и *in vivo*, известных в данной области техники, включая те, что описаны в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 1991, 9:457-492; патентах США № 5500362, 5821337; Hellstrom et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1986, 83:7059-7063; Hellstrom et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1985, 82:1499-1502; Bruggemann et al., *J. Exp. Med.*, 1987, 166:1351-1361; Clynes et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1998, 95:652-656; WO 2006/029879; WO 2005/100402; Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods*, 1996, 202:163-171; Cragg et al., *Blood*, 2003, 101:1045-1052; Cragg et al. *Blood*, 2004, 103:2738-2743 и Petkova et al., *Int'l. Immunol.*, 2006, 18: 1759-1769, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

### **8.4. Анализы цитотоксичности и исследования *in vivo***

**[00648]** Анализы для оценки цитотоксичности конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC), представленных в данном документе, описаны в других частях данного описания.

**[00649]** Исследования ксенотрансплантатов на мышях с ослабленным иммунитетом для оценки *in vivo* эффективности ADC, представленных в данном документе, описаны в другом месте в данном описании.

**[00650]** В данном раскрытии включены сингенные исследования на иммунокомпетентных мышях для оценки эффективности ADC *in vivo*.

#### **8.5. Иммуногистохимические (ИНС) анализы**

**[00651]** Иммуногистохимические (ИНС) анализы для оценки экспрессии TF в образцах пациентов описаны в другом месте в данном описании.

#### **8.6. Картирование химерных конструкций и анализы связывания эпитопов**

**[00652]** Различия в связывании эпитопа между антителами к TF человека, предложенными в данном документе, можно определить с помощью экспериментов по картированию химерных конструкций TF и анализов связывания эпитопов, что описано в другом месте в данном описании.

### **9. Фармацевтические композиции**

**[00653]** Предложенные в данном документе антитела или ADC могут быть составлены в виде любой подходящей фармацевтической композиции и вводиться любым подходящим путем введения. Подходящие пути введения включают, без ограничения, интравитреальный, внутриартериальный, внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, назальный, парентеральный, легочный и подкожный пути.

**[00654]** Фармацевтическая композиция может содержать один или более фармацевтических эксципиентов. Может быть использован любой подходящий фармацевтический эксципиент, и специалист в данной области техники сможет выбрать подходящие фармацевтические эксципиенты. Соответственно, фармацевтические эксципиенты, предложенные ниже, предназначены для иллюстрации, а не ограничения. Дополнительные фармацевтические эксципиенты включают, например, описанные в *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Rowe et al. (Eds.) 6th Ed. (2009), включенной посредством ссылки в полном объеме.

#### **9.1. Парентеральные лекарственные формы**

**[00655]** В некоторых вариантах осуществления антитела или ADC, предложенные в данном документе, составлены в виде парентеральных лекарственных форм. Парентеральные лекарственные формы можно вводить субъектам различными путями, включая, помимо прочего, подкожный, внутривенный (включая инфузии и болюсные инъекции), внутримышечный и внутриартериальный. Поскольку их введение обычно обходит естественную защиту субъектов против загрязняющих веществ, парентеральные лекарственные формы обычно стерильны или их можно стерилизовать перед введением субъекту. Примеры парентеральных лекарственных форм включают, но не ограничиваются ими, растворы, готовые для инъекции, сухие (например, лиофилизированные) продукты, готовые к растворению или суспендированию в фармацевтически приемлемом носителе для инъекций, суспензии, готовые для инъекции, и эмульсии.

### **10. Дозировка и разовые лекарственные формы**

**[00656]** В терапевтических целях для человека врач определяет дозу, которую он считает наиболее подходящей для профилактического или лечебного лечения, а также в соответствии с возрастом, массой, состоянием и другими факторами, специфичными для субъекта, которого лечат.

**[00657]** В некоторых вариантах осуществления композиция, предложенная в данном документе, представляет собой фармацевтическую композицию или разовую дозированную форму. Предложенные в данном документе фармацевтические композиции и разовые стандартные лекарственные формы содержат профилактически или терапевтически эффективное количество одного или более профилактических или терапевтических антител или ADC.

**[00658]** Количество антитела/ADC или композиции, которое будет эффективным для профилактики или лечения расстройства или одного или более его симптомов, может варьировать в зависимости от природы и тяжести заболевания или состояния, а также пути, которым вводят антитело/ADC. Частота и дозировка также могут варьировать в зависимости от факторов, специфичных для каждого субъекта, в зависимости от вводимой конкретной терапии (например, терапевтических или профилактических средств), тяжести расстройства, заболевания или состояния, пути введения, а также возраста, тела, массы, реакции и истории болезни субъекта. Эффективные дозы могут быть экстраполированы из кривых доза-ответ, полученных *in vitro* или модельных испытаний на животных системах.

**[00659]** Различные терапевтически эффективные количества могут быть применимы для различных заболеваний и состояний, как будет легко известно специалистам в данной области техники. Точно так же количества, достаточные для предотвращения, контроля, лечения или облегчения таких нарушений, но недостаточные для того, чтобы вызывать или достаточные для уменьшения побочных эффектов, связанных с антителами или ADC, предоставленными в данном документе, также охватываются количествами доз и схемами частоты введения, представленными в данном документе. Кроме того, когда субъекту вводят несколько доз композиции, предложенной в данном документе, не обязательно, чтобы все дозировки были одинаковыми. Например, доза, вводимая субъекту, может быть увеличена для улучшения профилактического или терапевтического эффекта композиции или может быть уменьшена для уменьшения одного или более побочных эффектов, которые испытывает конкретный субъект.

**[00660]** Как обсуждается более подробно в другом месте в данном описании, антитело или ADC, предложенное в данном документе, можно необязательно вводить с одним или более дополнительными агентами, полезными для предотвращения или лечения заболевания или расстройства. Эффективное количество таких дополнительных агентов может зависеть от количества ADC, присутствующего в составе, типа расстройства или лечения и других факторов, известных в данной области или описанных в данном документе.

## **11. Терапевтическое применение**

**[00661]** Для терапевтического применения антитела или ADC по данному изобретению вводят млекопитающему, обычно человеку, в фармацевтически приемлемой дозированной форме, такой как формы, известные в данной области техники, и те, которые обсуждались выше. Например, антитела или ADC по изобретению можно вводить человеку внутривенно в виде болюса или путем непрерывной инфузии в течение определенного периода времени, интравитреальным, внутримышечным, внутрибрюшинным, интрацереброспинальным, подкожным, внутрисуставным, интрасиновиальным, интратекальным путем или

внутриопухолевые путем. Антитела или ADC также подходящим образом вводят перитуморальным, внутриочаговым или перилезионным путями для оказания местного, а также системного терапевтического эффекта. Внутрибрюшинный путь может быть особенно полезным, например, при лечении опухолей яичников.

**[00662]** Предложенные в данном документе антитела или ADC могут быть полезны для лечения любого заболевания или состояния, связываемого TF. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние представляет собой заболевание или состояние, при котором может помочь лечение антителом или ADC к TF.

**[00663]** В некоторых вариантах осуществления антитела или ADC, предложенные в данном документе, предоставляются для применения в качестве лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления антитела или ADC, предложенные в данном документе, предназначены для применения при производстве или приготовлении лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство предназначено для лечения заболевания или состояния, при котором может помочь антитело или ADC к TF.

**[00664]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения заболевания или состояния у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC к TF, предложенных в данном документе.

**[00665]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, при котором лечение антителом к TF или ADC может быть улучшено, представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления антитела или ADC к TF, предложенные в данном документе, предназначены для применения в качестве лекарственного средства для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления антитела или ADC к TF, предложенные в данном документе, предназначены для применения в приготовлении лекарственного средства для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC к TF, предложенных в данном документе.

**[00666]** TF участвует в тромбозе, метастазировании, росте опухоли и/или опухолевом ангиогенезе различных типов рака, таких как рак яичников (См. Sakurai et al., *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27:37-43; Koizume et al., *Biomark Cancer*, 2015, 7:1-13; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме), рак шейки матки (См. Cocco et al., *BMC Cancer*, 2011, 11:263, включенный посредством ссылки в полном объеме), рак головы и шеи (См. Christensen et al., *BMC Cancer*, 2017, 17:572, включенный посредством ссылки в полном объеме), рак предстательной железы (См. Yao et al., *Cancer Invest.*, 2009, 27:430-434; Abdulkadir et al., *Hum Pathol.*, 2009, 31:443-447; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме), рак поджелудочной железы (См. Zhang et al., *Oncotarget*, 2017, 8:59086-59102, включенный посредством ссылки в полном объеме), тройной негативный рак груди (См. Zhang et al., *Oncotarget*, 2017, 8:59086-59102, включенный посредством ссылки в полном объеме), глиобластома (См. Guan et al., *Clin Biochem.*, 2002, 35:321-325; Carneiro-Lobo et al., *J Thromb Haemost*, 2009, 7:1855-1864; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме), рак легких (См. Yeh et al., *PLoS One*, 2013, 8:e75287; Regina et al., *Clin Chem.*, 2009, 55:1834-42; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме), рак желудка (См. Lo et al., *Br J Cancer.*, 2012, 107:1125-1130, включенный посредством ссылки в полном объеме), рак пищевода (См. Chen et al., *Acta Histochem.*, 2010, 3:233-239, включенный посредством ссылки в полном объеме), рак мочевого пузыря (См. Patry et al., *Int J Cancer.*, 2008, 122:1592-

1597, включенный посредством ссылки в полном объеме), меланому (См. Bromberg et al., *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1995, 92:8205-8209, включенный посредством ссылки в полном объеме) и рак почки (См. Silva et al., *Int Braz J Urol.*, 2014, 40:499-506, включенный посредством ссылки в полном объеме).

**[00667]** Любой подходящий рак можно лечить с помощью антител или ADC, предложенных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки. Дополнительная информация о типах рака, которые можно лечить антителами к TF или ADC, представлена в van den Berg et al., *Blood*, 2012, 119:924-932, который включен в качестве ссылки в полном объеме.

**[00668]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ отсрочки начала развития рака у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, предложенных в данном документе.

**[00669]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ предотвращения начала развития рака у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, предложенных в данном документе.

**[00670]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ уменьшения размера опухоли у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, предложенных в данном документе.

**[00671]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ уменьшения количества метастазов у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, предложенных в данном документе.

**[00672]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ увеличения периода общей выживаемости, среднего времени выживаемости или выживаемости без прогрессирования у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, предложенных в данном документе.

**[00673]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения субъекта, который стал устойчивым к стандартному терапевтическому уходу, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, предложенных в данном документе.

**[00674]** В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, при котором лечение антителом к TF может быть улучшено, представляет собой заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее

неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой диабетическую ретинопатию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, при котором лечение антителом к TF может быть улучшено, представляет собой заболевание или состояние, включающее васкулярное воспаление.

**[00675]** В некоторых вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, предназначены для применения в качестве лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, связанного с неоваскуляризацией. В некоторых вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, предназначены для применения при изготовлении или получении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, связанного с неоваскуляризацией. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой диабетическую ретинопатию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, предназначены для применения в качестве лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, связанного с васкулярным воспалением. В некоторых вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, предназначены для применения при изготовлении или получении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, связанного с васкулярным воспалением.

**[00676]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения заболевания или состояния, связанного с неоваскуляризацией, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела к TF, предложенного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой диабетическую ретинопатию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения заболевания или состояния, связанного с васкулярным воспалением, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела к TF, предложенного в данном документе.

**[00677]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ отсрочки начала развития заболевания или состояния, связанного с неоваскуляризацией, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

**[00678]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ предотвращения начала развития заболевания или состояния, связанного с неоваскуляризацией, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

**[00679]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ отсрочки начала возрастной дегенерации желтого пятна (AMD) у субъекта, который в этом нуждается, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

**[00680]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ предотвращения начала возрастной дегенерации желтого пятна (AMD) у субъекта, который в этом нуждается, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

**[00681]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ отсрочки начала развития диабетической ретинопатии у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

**[00682]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ предотвращения начала развития диабетической ретинопатии у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

**[00683]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ отсрочки начала развития заболевания или состояния, связанного с васкулярного воспаления, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

**[00684]** В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ предотвращения начала развития заболевания или состояния, связанного с васкулярного воспаления, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

## **12. Комбинированные терапии**

**[00685]** В некоторых вариантах осуществления антитело или ADC, предложенные в данном документе, вводят с по меньшей мере одним дополнительным терапевтическим агентом. Любой подходящий дополнительный терапевтический агент можно вводить с антителом или ADC, предложенными в данном документе. В некоторых аспектах дополнительный терапевтический агент выбирают из радиоизотопа, цитотоксического агента, химиотерапевтического агента, цитостатического агента, противогормонального агента, иммуностимулирующего агента, антиангиогенного агента и их комбинаций.

**[00686]** Дополнительный терапевтический агент можно вводить любыми подходящими способами. В некоторых вариантах осуществления антитело или ADC, предложенные в данном документе, и дополнительный терапевтический агент включены в одну и ту же фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления антитело или ADC, предложенные в данном документе, и дополнительный терапевтический агент включены в разные фармацевтические композиции.

**[00687]** В вариантах осуществления, в которых антитело или ADC, предложенные в данном документе, и дополнительный терапевтический агент включены в различные фармацевтические композиции, введение антитела или ADC может происходить до, одновременно и/или после введения дополнительного терапевтического агента.

## **13. Способы диагностики**

**[00688]** Также предложены способы обнаружения присутствия TF на клетках субъекта. Такие способы можно использовать, например, для прогнозирования и оценки реакции на лечение антителом или ADC, предложенным в данном документе.

**[00689]** В некоторых вариантах осуществления способ можно применять для обнаружения ТФ у субъекта, имеющего или подозреваемого в заболевании или состоянии. В некоторых вариантах осуществления способы включают (а) получение образца от субъекта; и (b) обнаружение присутствия или уровня ТФ в образце путем приведения в контакт образца с антителом, предложенным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают (а) введение субъекту антитела, предложенного в данном документе; и (b) обнаружение присутствия или уровня ТФ у субъекта. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой диабетическую ретинопатию. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние включает васкулярное воспаление.

**[00690]** В некоторых вариантах осуществления способы включают (а) введение субъекту ADC, предложенного в данном документе; и (b) обнаружение присутствия или уровня ТФ у субъекта. В некоторых вариантах осуществления заболевание или патологическое состояние представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы. В некоторых вариантах рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки.

**[00691]** В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, конъюгировано с флуоресцентной меткой. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, конъюгировано с радиоактивной меткой. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, конъюгировано с ферментной меткой.

**[00692]** В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенное в данном документе, содержит флуоресцентную метку. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенное в данном документе, содержит радиоактивную метку. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенное в данном документе, содержит ферментную метку.

**[00693]** В некоторых вариантах осуществления определяют относительное количество TF, экспрессируемого такими клетками. Долю клеток, экспрессирующих TF, и относительное количество TF, экспрессируемого такими клетками, можно определить любым подходящим методом. В некоторых вариантах осуществления для проведения таких измерений используют проточную цитометрию. В некоторых вариантах осуществления для проведения такого измерения используют сортировку флуоресцентно активируемых клеток (FACS).

#### **14. Наборы**

**[00694]** Также предложены наборы, содержащие антитела или ADC, предложенные в данном документе. Наборы можно использовать для лечения, профилактики и/или диагностики заболевания или нарушения, как описано в данном документе.

**[00695]** В некоторых вариантах осуществления набор содержит контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку на контейнере или связанную с ним. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы и пакеты с раствором для внутривенного введения. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер содержит композицию, которая сама по себе или в сочетании с другой композицией эффективна для лечения, предотвращения и/или диагностики заболевания или нарушения. Контейнер может иметь стерильный порт доступа. Например, если контейнер представляет собой пакет с раствором для внутривенного введения или флакон, он может иметь порт, который можно проткнуть иглой. По меньшей мере, один активный агент в композиции представляет собой антитело или ADC, предложенные в данном документе. На этикетке или на листке-вкладыше в упаковку указано, что композицию применяют для лечения выбранного патологического состояния.

**[00696]** В некоторых вариантах осуществления набор включает (а) первый контейнер с первой композицией, содержащейся в нем, причем первая композиция содержит антитело или ADC, предложенные в данном документе; и (b) второй контейнер со второй композицией, содержащейся в нем, причем вторая композиция содержит дополнительный терапевтический агент. Набор в этом варианте осуществления может дополнительно содержать вкладыш в упаковку, указывающий, что композиции можно использовать для лечения определенного патологического состояния.

**[00697]** Альтернативно или дополнительно набор может дополнительно содержать второй (или третий) контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых аспектах эксципиент представляет собой буфер. Набор может дополнительно содержать другие материалы, желательные с коммерческой точки зрения и с точки зрения пользователя, включая фильтры, иглы и шприцы.

## ПРИМЕРЫ

**[00698]** Ниже приведены примеры способов и композиций по данному изобретению. Понятно, что различные другие варианты осуществления могут быть реализованы на практике, учитывая общее описание, представленное в данном документе.

**[00699]** Ниже приведены примеры конкретных вариантов осуществления данного изобретения. Примеры являются исключительно иллюстративными и никоим образом не подразумевают ограничения объема данного изобретения. Были приняты меры для того, чтобы сохранить точность в отношении используемых чисел (например, количеств, значений температуры и т. д.), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения.

**[00700]** В практике по настоящему изобретению будут использоваться, если не указано иное, стандартные методы химии, биохимии белков, рекомбинантных ДНК и фармакологии в пределах квалификации в данной области техники. Такие методики подробно описаны в литературе. См., например, T.E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry 3<sup>rd</sup> Ed.* (Plenum Press) Vols A and B(1992).

### Пример 1. Получение антител к TF

**[00701]** Фрагменты внеклеточного домена TF (ECD) человека, яванского макака и мыши экспрессировали в виде слитых C-концевых фрагментов His или Fc<sub>γ</sub>. Клетки Expi293 (ThermoFisher Scientific, Волтам, штат Массачусетс, США) были временно трансфицированы в соответствии с рекомендациями производителя с pcDNA3.1V5-HisA (ThermoFisher Scientific), кодирующим TF человека, яванского макака или мыши ECD-His6 (TF-His; SEQ ID NO: 811, 815 и 819, соответственно) или pFUSE-hlgG1-Fc (Invivogen, Сан Диего, штат Калифорния, США) кодирующим ECD – Fc TF человека, яванского макака или мыши (TF-Fc; SEQ ID NO: 812, 816 и 820, соответственно). Для белков, меченных His, супернатанты клеточной культуры, очищенные от клеток центрифугированием, предварительно кондиционировали 330 мМ хлоридом натрия и 13,3 мМ имидазолом. Используя рекомендованные процедуры, белки TF-His6 и TF-Fc очищали с помощью аффинной хроматографии на колонке HisTrap HP и MabSelect SuRe (GE Healthcare Bio-Sciences, Мальборо, штат Массачусетс, США) соответственно. FVII-Fc, экспрессируемый в Expi293, очищали аффинной хроматографией на колонке MabSelect SuRe с последующей эксклюзионной хроматографией. Белки TF-His6 и TF-Fc биотинилировали с 15-кратным молярным избытком Sulfo-NHS-SS-биотина, как рекомендовано (ThermoFisher Scientific). Немеченные и биотинилированные белки дополнительно очищали эксклюзионной хроматографией с использованием колонки Superdex 200 Increase 10/300 (GE Healthcare Bio-Sciences).

**[00702]** Антитела человека к TF человека были получены путем презентации антител на основе дрожжей Adimab™ с использованием биотинилированных рекомбинантных белков TF в качестве скрининговых антигенов, как описано ниже. Все антитела против к TF человека оценивали на перекрестную реактивность с TF яванского макака и мыши. Связывающая активность антител к TF человека, яванского макака и мыши представлена в Таблице 5.

**[00703]** I. Методология запросов и выбора библиотеки для выделения антител к TF

**[00704]** *Выбор наивной библиотеки*

**[00705]** Было разработано, создано и распространено восемь наивных библиотек синтетических дрожжей человека, каждая из  $\sim 10^9$  разнообразия, как описано ранее (см, например, WO2009036379; WO2010105256; WO2012009568; Xu et al., *Protein Eng Des Sel.*, 2013, 26(10):663-70). Было выполнено восемь параллельных отборов с использованием восьми наивных библиотек для отбора мономерных TF человека.

**[00706]** Для первых двух раундов отбора была использована методика сортировки магнитных частиц с использованием системы Miltenyi MACS, как по существу описано в (Siegel et al., *J Immunol Methods*, 2004, 286(1-2):141-53). Вкратце, дрожжевые клетки ( $\sim 10^{10}$  клеток/библиотека) инкубировали с 10 нМ слитого антигена биотинилированный TF человека-Fc в течение 15 минут при комнатной температуре в промывочном буфере FACS PBS с 0,1% BSA. После однократной промывки 50 мл ледяного промывочного буфера осадок клеток ресуспендировали в 40 мл промывочного буфера и к дрожжам добавляли 500 мкл стрептавидина MicroBeads (Miltenyi Biotec, Бергиш-Гладбах, Германия; кат. № 130-048-101) и инкубировали 15 мин при 4 °C. Затем дрожжи осаждали, ресуспендировали в 5 мл промывочного буфера и загружали в колонку MACS LS (Miltenyi Biotec, Бергиш-Гладбах, Германия; кат. № 130-042-401). После загрузки 5 мл, колонку промывали 3 раза 3 мл промывочного буфера FACS. Колонку затем удаляли из магнитного поля и дрожжи элюировали 5 мл питательной среды и затем выращивали в течение ночи.

**[00707]** После двух раундов MACS были выполнены следующие четыре раунда сортировки с использованием проточной цитометрии (FACS). Для первого раунда FACS осаждали приблизительно  $5 \times 10^7$  дрожжей, трижды промывали промывочным буфером и инкубировали с 10 нМ каждого слитого белка биотинилированный Fc-антиген TF мыши и/или яванского макака в течение 10-15 мин при комнатной температуре. Затем дрожжи дважды промывали и окрашивали LC-FITC, разведенным 1:100 (Southern Biotech, Бирмингем, штат Алабама; каталожный номер 2062-02), либо SA-633 (Life Technologies, Гранд-Айленд, штат Нью-Йорк; кат. № S21375), разведенным 1:500 или EA-PE (Sigma-Aldrich, Сент-Луис; кат. № E4011), разбавленный 1:50, вторичные реагенты в течение 15 минут при 4 °C. После двукратной промывки ледяным буфером для промывки осадки клеток ресуспендировали в 0,4 мл промывочного буфера и переносили в сортирующие пробирки с сетчатым колпачком. Сортировку выполняли с использованием сортировщика FACS ARIA (BD Biosciences), и определяли сортировочные гейты для отбора связанных TF образцов. Популяции, отобранные мышами и яванским макаками из первого раунда FACS, были выращены и размножены путем субкультивирования в селективных средах. Второй, третий и четвертый раунды FACS включали положительные сортировки для обогащения связывающими TF и/или отрицательные сортировки для уменьшения количества неспецифических связывающих веществ с использованием растворимых мембранных белков из клеток CHO (см., например, WO2014179363 и Xu et al., *PEDS*, 2013, 26(10):663-70). После последнего раунда сортировки дрожжи высевали и секвенировали.

**[00708]** *Созревание аффинности клонов, идентифицировали при наивном отборе*

**[00709]** Тяжелые цепи из исходных продуктов (описанных выше) использовали для получения библиотек диверсификации легких цепей, которые затем использовали для дополнительных раундов отбора. В частности, вариабельные области тяжелой цепи были извлечены из выходов четвертого раунда первичного отбора и преобразованы в библиотеку легких цепей с разнообразием, равным  $1 \times 10^6$ .

**[00710]** В первом раунде отбора в качестве антигена использовали гранулы Miltenyi MACS и 10 нМ слитый белок биотинилированный Fc-TF человека. После отбора гранул MACS проводили три раунда FACS-сортировки, как описано выше, с использованием TF яванского макака и мыши, слитого с Fc, в

концентрации 10 нМ или либо биотинилированных антигенов TF, слитых с Fc, либо биотинилированных мономерных HIS-форм TF человека, мыши или яванского макака. Секвенировали отдельные колонии из каждого раунда отбора FACS.

**[00711]** *Оптимизация перспективных клонов, выявленных в результате выбора наивных вариантов или вариантов диверсификации легкой цепи*

**[00712]** Оптимизацию перспективных клонов проводили с использованием трех стратегий созревания: диверсификация CDR-H1 и CDR-H2; диверсификация CDR-H3 после оптимизации пула разнообразия CDR-H1 и CDR-H2; и диверсификация CDR-L3 в выбранных пулах разнообразия CDR-L1 и CDR-L2.

**[00713]** Отбор CDR-H1 и CDR-H2: CDR-H3 из клонов, выбранных с помощью процедуры диверсификации либо наивной, либо легкой цепи, рекомбинировали в предварительно созданную библиотеку с вариантами CDR-H1 и CDR-H2 с разнообразием  $1 \times 10^8$ , а отбор осуществляли с использованием биотинилированного Fc-слитого антигена TF яванского макака, биотинилированного антигена HIS-TF яванского макака и/или биотинилированного HIS-TF человека. Давление аффинности применялось с использованием уменьшающихся концентраций биотинилированных антигенов HIS-TF (до 1 нМ) в условиях равновесия при комнатной температуре.

**[00714]** Выбор CDR-H3/CDR-H1/CDR-H2: олиго были заказаны в IDT, которые включали CDR-H3, а также гомологичные фланкирующие области по обе стороны от CDR-H3. Позиции аминокислот в CDR-H3 варьировали за счет разнообразия NNK в двух положениях на олигонуклеотид по всей CDR-H3. Олиго CDR-H3 были двухцепочечными с использованием праймеров, которые отжигались с фланкирующей областью CDR-H3. Оставшиеся FR1-FR3 варибельной области тяжелой цепи амплифицировали из пулов антител с улучшенной аффинностью, которые были выделены из разнообразия CDR-H1 и CDR-H2, выбранных выше. Затем создавали библиотеку путем трансформации двухцепочечного олигонуклеотида CDR-H3, объединенных фрагментов FR1 в FR3 и вектора экспрессии тяжелой цепи в дрожжи, уже содержащие легкую цепь родителя. Отбор производился, как и в предыдущих циклах, с использованием сортировки FACS. Раунды FACS оценивали неспецифическое связывание, перекрестную реактивность видов и давление аффинности, а также проводили сортировку для получения популяций с желаемыми характеристиками. Давление аффинности для этих выборов выполняли, как описано выше для выбора CDR-H1 и CDR-H2.

**[00715]** Выбор CDR-L3/CDR-L1/CDR-L2: олиго были заказаны в IDT, которые включали CDR-L3, а также гомологичные фланкирующие области по обе стороны от CDR-L3. Позиции аминокислот в CDR-L3 варьировали за счет разнообразия NNK в одном положении на олигонуклеотид по всей CDR-L3. Олиго CDR-L3 были двухцепочечными с использованием праймеров, которые отжигались с фланкирующей областью CDR-L3. Оставшиеся FR1-FR3 варибельной области легкой цепи амплифицировали из пулов антител с улучшенной аффинностью, которые были выделены из разнообразия CDR-L1 и CDR-L2, выбранных выше. Затем создавали библиотеку путем трансформации двухцепочечного олигонуклеотида CDR-L3, объединенных фрагментов FR1 в FR3 и вектора экспрессии легкой цепи в дрожжи, уже содержащие тяжелую цепь родителя. Отбор производился, как и в предыдущих циклах, с использованием сортировки FACS. Раунды FACS оценивали неспецифическое связывание, перекрестную реактивность видов и давление аффинности, а также проводили сортировку для получения популяций с желаемыми характеристиками. Давление аффинности включало титрование, а также включение исходного Fab в предварительное комплексообразование антигена.

**[00716]** II. Получение и очистка IgG и Fab

**[00717]** Чтобы произвести достаточное количество выбранных антител для дальнейшей характеристики, клоны дрожжей выращивали до насыщения, а затем индуцировали в течение 48 ч при 30 °C при встряхивании. После индукции дрожжевые клетки осаждали и супернатанты собирали для очистки. IgG очищали с использованием колонки с белком А и элюировали уксусной кислотой, рН 2,0. Fab-фрагменты были получены путем ферментативного расщепления папаином и очищены с использованием аффинной матрицы CaptureSelect IgG-CH1 (LifeTechnologies, кат. № 1943200250).

#### Пример 2: Анализ аффинности связывания

**[00718]** Кинетические измерения для антител к TF проводили на Octet QK384 (Pall ForteBio, Фремонт, штат Калифорния, США) или Biacore (GE Healthcare Bio-Sciences).

**[00719]** Измерения аффинности ForteBio в основном выполняли, как описано ранее (Estep *et al.*, MAbs. 2013 Mar-Apr;5(2):270-8). Вкратце, измерения аффинности с помощью ForteBio выполняли путем загрузки IgG в режиме онлайн на датчики АНС. Сенсоры уравнивали офлайн в буфере для анализа в течение 30 минут и затем контролировали в режиме онлайн в течение 60 секунд для установления исходного уровня. Сенсоры с нагруженными IgG подвергали воздействию 100 нМ антигена (TF человека, яванского макака или мыши) в течение 3 мин., после чего их переносили в буфер для анализа на 3 мин. для измерения скорости диссоциации. Альтернативно, измерения связывания были получены путем загрузки биотинилированного мономера TF на сенсоры SA с последующим воздействием 100 нМ Fab антитела в растворе. Кинетические данные были проанализированы и сглажены с использованием модели связывания Ленгмюра 1:1, а  $K_D$  был рассчитан путем деления  $k_{off}$  на  $k_{on}$ . Значения  $K_D$  антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Octet, показаны в **Таблице 5**.

**[00720]** Для измерений на основе Biacore антитело ковалентно связывали с чипом CM5 или C1 с использованием набора для связывания аминов (GE Healthcare Bio-Sciences). Связь между антителами к TF и пятиточечным трехкратным титрованием TF-His, начиная с 25-500 нМ, измеряли в течение 300 секунд. Затем измеряли диссоциацию между антителом к TF и TF-His в течение до 1800 секунд. Кинетические данные были проанализированы и сглажены в глобальном масштабе с использованием модели связывания 1:1. Значения  $K_D$  антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Biacore, показаны в **Таблице 5**.

**[00721]** Как показано в **Таблице 5**, аффинность антител к hTF, как показано  $K_D$ , находится в диапазоне  $10^{-7}$  М -  $10^{-11}$  М. Все антитела к hTF перекрестно реагируют с cTF. Кроме того, все антитела против hTF из групп 25 и 43 проявляют активность связывания с mTF. Антитела против hTF 25G, 25G1, 25G9 и 43D8 перекрестно реагируют с mTF. Не существует других известных человеческих или гуманизированных моноклональных антител против hTF, которые проявляли бы связывающую активность и перекрестную реактивность с TF мыши, что указывает на то, что антитела из групп 25 и 43 связываются с новым эпитопом TF.

**Таблица 5:** Кинетика антител

Ab	$K_D$ человека (нМ) [Biacore]	$K_D$ яванского макака (нМ) [Biacore]	$K_D$ мыши (нМ) [Biacore]	$K_D$ человека (нМ) [ForteBio]	$K_D$ яванского макака (нМ) [ForteBio]	$K_D$ мыши (нМ) [ForteBio]
1F	0,31	0,26	н/о*	1,28	1,43	без связывания*

Ab	К <sub>D</sub> человека (нМ) [Biacore]	К <sub>D</sub> яванского макака (нМ) [Biacore]	К <sub>D</sub> мыши (нМ) [Biacore]	К <sub>D</sub> человека (нМ) [ForteBio]	К <sub>D</sub> яванского макака (нМ) [ForteBio]	К <sub>D</sub> мыши (нМ) [ForteBio]
1G	н/о*	н/о*	н/о*	2,20	2,70	н/о*
25A	6,20	5,42	н/о*	8,45	7,65	263
25A3	0,36	0,21	н/о*	1,67	1,36	131
25A5	0,08	0,04	н/о*	0,64	0,76	188
25G	23,0	18,0	н/о*	21,9	17,5	114
25G1	0,94	0,78	5,4	3,97	4,99	34,2
25G9	13,3	16,4	2,9	35,8	42,9	9,16
29D	н/о*	н/о*	н/о*	3,30	12,0	н/о
29E	0,47	5,06	н/о*	2,32	15,0	без связывания*
39A	0,09	0,08	н/о*	0,83	0,57	без связывания*
43B	1,75	5,64	н/о*	2,40	3,40	161
43B1	0,07	0,12	н/о*	0,96	1,05	72,1
43B7	0,14	0,24	н/о*	0,86	0,94	360
43D	2,09	5,66	н/о*	3,84	4,12	281
43D7	0,06	0,12	21	1,02	1,11	41,4
43D8	0,15	0,39	2,4	1,61	1,96	6,12
43E	1,46	5,69	н/о*	2,52	4,07	121
43Ea	1,60	6,42	н/о*	2,28	2,71	140
54E	0,42	1,83	н/о*	1,59	4,16	без связывания*

без связывания\*: от полного отсутствия до слабого связывания, без сообщаемой К<sub>D</sub>  
н/о\*, не определено

### Пример 3: Анализ связывания на основе клеток

**[00722]** Клетки HCT116 с эндогенной экспрессией TF человека были получены из Американской коллекции культур тканей (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) и их культивировали в соответствии с рекомендациями. Клетки Flp-In-CHO, экспрессирующие TF мыши, получали путем трансфекции клеток Flp-In-CHO, как рекомендовано, вектором pcDNA5 / FRT (ThermoFisher Scientific), кодирующим полноразмерный TF мыши с С-концевой меткой FLAG. Клон CHO, позитивный в отношении TF мыши выделяли путем ограниченного разведения в 96-луночных планшетах с культурой ткани.

**[00723]** Связывание антител на клеточной основе оценивали, как ранее описано в Liao-Chan et al., *PLoS One*, 2015, 10: e0124708, которая полностью включена посредством ссылки.  $1,2 \times 10^5$  клеток, собранных с помощью Cellstripper (Mediatech, Манассас, штат Вирджиния, США), инкубировали с двенадцатиточечным титрованием 1:3 антител IgG1 или Fab к TF человека, начиная с 250 нМ или 100 нМ в течение 2 часов на льду. После 2 промываний клетки, меченные IgG1 или Fab, инкубировали в течение 30 минут на льду с 150

нМ фрагмента F(ab')<sub>2</sub> козьего фикоэритрина (PE) козьего антитела против IgG человека, специфичного к фрагменту Fc $\gamma$  (Jackson ImmunoResearch, Вест Гроув, штат Пенсильвания, США) или FITC-меченному фрагменту F(ab')<sub>2</sub> козьего антитела к каппа цепи человека (SouthernBiotech, Бирмингем, штат Алабама, США), соответственно. После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, Бреа, штат Калифорния, США) или проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, Сан-Диего, штат Калифорния, США). Медианные интенсивности флуоресценции (MFI) для каждого разведения были нанесены на график и рассчитаны EC<sub>50</sub> клеток с использованием 4-параметрической модели связывания в Prism (GraphPad, Ла Джолла, штат Калифорния, США). Результаты связывания антител к TF с TF-позитивными клетками НСТ-116 человека показаны на **Фиг. 1А и 1В**. Результаты связывания антител к TF с клетками CHO, экспрессирующими TF мыши, показаны на **Фиг. 2А и 2В**.

**[00724]** Все антитела к hTF на **Фиг. 1А и 1В** проявляют высокую аффинность к TF-позитивным клеткам НСТ-116 человека с EC<sub>50</sub> в диапазоне от около 687 пМ до около 39 пМ. Антитела из групп 25 и 43 проявляют связывание с клетками CHO, экспрессирующими мышиный TF с EC<sub>50</sub> в диапазоне от около 455 нМ до около 2,9 нМ, как показано на **Фиг. 2А и 2В**. Активность связывания с TF мыши является уникальным свойством антител к hTF из групп 25 и 43. Этот факт является полезным для доклинических исследований этих антител на мышах.

#### **Пример 4: Анализ образования тромбина (TGA)**

**[00725]** Анализ TGA проводили с использованием прибора для калиброванной автоматической тромбограммы (CAT), изготовленного и распространенного STAGO. Схема метода тестирования была эквивалентна стандартному анализу CAT, за исключением того, что источником плазмы был NPP в цитрате/СТІ. Антитела к TF титровали при 0, 10, 50 и 100 нМ и смешивали с нормальной объединенной плазмой (NPP), собранной в 11 мМ цитрате с добавлением 100 мкг/мл ингибитора кукурузного трипсина (цитрат/СТІ). Повторно липидированный TF добавляли в 96-луночный аналитический планшет с последующим добавлением смеси антитело/NPP. После 10-минутной инкубации или сразу после объединения повторно липидированного TF с антителом/NPP инициировали образование тромбина путем добавления кальция и субстрата тромбина. Программное обеспечение STAGO использовали для определения следующих параметров: пик Па (самая высокая полученная концентрация тромбина [нМ]); Время задержки (время до образования Па [мин]); ЕТР (потенциал эндогенного тромбина, площадь под кривой [нМ x мин]) и вдПика (время до пика Па [мин]). Также определяли процент пика образования тромбина (% пик Па) и процент потенциала эндогенного тромбина (% ЕТР) в присутствии каждого антитела относительно контроля плазмы без антител на том же планшете.

**[00726]** Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па и % ЕТР в присутствии каждого антитела, выбранного из 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea и 54E без инкубации с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 6**. Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па и % ЕТР в присутствии каждого антитела, выбранного из 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea и 54E с 10 минутной инкубацией с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 7**. % Пика Па в присутствии титров антител к TF без инкубации с антителом перед добавлением кальция и субстрата тромбина представлен в виде графика на **Фиг. 3А**. % Пика Па в

присутствии титров антител к TF с 10 минутной инкубацией с антителом перед добавлением кальция и субстрата тромбина представлен в виде графика на **Фиг. 3В**.

**[00727]** % Пика Па превышает 90 % в присутствии антител из группы 25, включая 25А, 25А3 и 25G1. % ЕТР превышает 100 % в присутствии антител из группы 25, включая 25А, 25А3 и 25G1. % Пика Па превышает 40 % в присутствии антител из группы 43, включая 43В1, 43D7 и 43Еа. % ЕТР превышает 90 % в присутствии антител из группы 43, включая 43В1, 43D7 и 43Еа.

**[00728]** Эти данные демонстрируют, что антитела из групп 25 и 43 обеспечивают нормальное образование тромбина и, следовательно, не являются ингибиторами образования тромбина.

**Таблица 6:** Анализ образования тромбина без предварительной инкубации с антителом

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
1	1F	100	29	25,9	*	37,9	7	*
		50	32	27,2	*	36,8	8	*
		10	83	12,1	1395	19,8	21	58
1	25А	100	398	4,4	2610	7,1	99	108
		50	399	4,2	2621	7,1	99	108
		10	403	4,1	2555	6,8	100	106
1	25А3	100	405	3,9	2493	6,5	100	103
		50	404	3,9	2495	6,6	100	103
		10	401	4,2	2550	7,3	99	106
1	25G1	100	416	4,5	2626	7,1	103	109
		50	416	4,5	2680	7,1	103	111
		10	417	4,5	2635	7,0	103	109
1	29Е	100	99	17,3	*	26,4	25	*
		50	107	14,4	1747	22,7	26	72
		10	266	5,7	2189	10,0	66	91
1	39А	100	26	28,9	*	40,1	6	*
		50	30	30,5	*	40,0	7	*
		10	82	12,1	1330	19,6	20	55
1	Контроль, плазма	Не анализирован	403	4,1	2417	6,8	100	100
2	43В1	100	221	5,2	2167	10,6	64	100
		50	232	5,2	2195	10,3	67	101
		10	299	4,9	2288	8,9	87	105
2	43D7	100	179	5,4	2094	11,8	52	96
		50	202	5,3	2116	11,1	58	97
		10	287	5,0	2263	9,0	83	104
2	43Еа	100	300	4,6	2219	8,1	87	102

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
		50	307	4,6	2234	8,1	89	103
		10	328	5,0	2329	8,3	95	107
2	54E	100	68	14,8	1175	23,9	20	54
		50	154	8,9	2019	15,9	44	93
		10	307	5,7	2307	9,6	89	106
2	Изотип	100	348	5,0	2415	8,3	101	111
		50	347	5,0	2360	8,0	101	109
		10	346	4,3	2260	7,6	100	104
2	Контроль, плазма	Не анализирован	345	4,7	2171	7,8	100	100

\* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

**Таблица 7:** Анализ образования тромбина с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
1	1F	100	17	30,3	*	42,0	7	*
		50	20	27,6	*	38,9	7	*
		10	27	18,8	540	28,6	10	31
1	25A	100	285	3,3	1898	6,7	108	110
		50	284	3,3	1887	6,6	107	110
		10	277	3,3	1842	6,7	105	107
1	25A3	100	277	3,1	1785	6,3	105	104
		50	275	3,2	1824	6,4	104	106
		10	278	3,2	1827	6,6	105	106
1	25G1	100	293	3,3	1827	6,4	111	106
		50	301	3,3	1853	6,3	114	108
		10	302	3,3	1891	6,3	114	110
1	29E	100	68	15,1	1098	25,3	26	64
		50	70	14,2	1168	24,3	27	68
		10	78	10,4	1254	20,2	30	73
1	39A	100	17	28,0	*	40,2	7	*
		50	17	28,4	346	38,9	7	20
		10	25	20,8	482	30,7	9	28

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
1	Контроль, плазма	Не анализирован	264	3,3	1720	6,8	100	100
2	43B1	100	152	3,2	1712	9,3	58	98
		50	163	3,2	1797	9,0	62	103
		10	200	3,2	1788	8,1	76	103
2	43D7	100	124	3,6	1656	10,3	47	95
		50	128	3,6	1677	10,3	49	96
		10	178	3,6	1745	8,8	68	100
2	43Ea	100	239	2,9	1820	6,9	91	104
		50	227	2,9	1791	7,1	87	103
		10	247	3,2	1825	7,0	94	105
2	54E	100	29	22,1	580	32,3	11	33
		50	35	18,3	680	28,4	13	39
		10	112	6,1	1530	13,4	43	88
2	Изотип	100	288	3,2	1888	6,6	110	108
		50	285	3,2	1879	6,6	109	108
		10	273	3,2	1804	6,6	104	104
2	Контроль, плазма	Не анализирован	262	3,2	1742	6,9	100	100

\* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

#### Пример 5: Анализ конверсии FXa

**[00729]** Чтобы оценить способность TF: FVIIa превращать FX в FXa в присутствии антител человека к TF,  $5 \times 10^4$  клеток MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) помещали в обработанные культурой ткани черные 96-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США). После удаления среды для культивирования клеток и добавления конечной концентрации 200 нМ FX в буфере HEPES с 1,5 мМ CaCl<sub>2</sub> клетки инкубировали с титрами антител в течение 15 мин при 37 °С. После восстановления бинарного комплекса TF: FVIIa с конечной концентрацией 20 нМ FVIIa клетки инкубировали в течение 5 минут при 37 °С. После гашения реакции этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) образовавшийся FXa измеряли с помощью 50 мкМ флуорогенного субстрата на основе 6-амино-1-нафталинсульфонамида SN-7 (Haematologic Technologies, Эссекс-Джанкшен, штат Вермонт, США) на планшет-ридере Envision, оборудованном фильтром возбуждения Umbelliferone 355, эмиссионным фильтром Umbelliferone 460 и верхним зеркалом LANCE/DELTA (Perkin Elmer, Волтам, штат Массачусетс, США). Процент превращения FXa (% FXa) в присутствии титров антител к TF относительно контроля без антител приведен в **Таблице 8** и представлен на **Фиг. 4А и 4В**.

**[00730]** Процент превращения FXa находится в диапазоне от около 78 % до около 120 % в присутствии различных концентраций антител из групп 25 и 43, включая 25A, 25A3, 25G, 25G1, 25G5, 25G9, 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7, 43D8, 43E и 43Ea.

**[00731]** Эти данные показывают, что антитела к TF из групп 25 и 43 не ингибируют опосредованное TF: FVIIa превращение FXa из FX. Эти данные также показывают, что антитела к TF из групп 25 и 43 имеют сайт связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX.

**Таблица 8:** % конвертации FXa

Антитело	% FXa			
	12,5 нМ	25 нМ	50 нМ	100 нМ
1F	49	40	37	38
1G	55	48	41	41
25A	87	81	94	89
25A3	89	89	93	96
25A5	82	85	78	89
25G	99	109	102	116
25G1	101	96	99	108
25G9	98	97	104	117
29D	85	77	75	75
29E	81	68	63	66
39A	39	38	37	39
43B	113	109	105	105
43B1	106	108	108	112
43B7	113	104	108	112
43D	115	109	104	106
43D7	110	103	102	103
43D8	120	112	107	111
43E	85	89	97	98
43Ea	108	103	106	101
54E	53	44	41	42
5G9	37	33	30	30
Изотипический контроль	93	95	89	97

**Пример 6: Конкурентный анализ FVIIa**

**[00732]** Конъюгаты FVII-Fc получали с использованием сложных эфиров 5-сульфодихлорфенола Alexa Fluor 488 (ThermoFisher Scientific). Избыток красителя Alexa Fluor удаляли из препаратов конъюгата посредством гель-фильтрации (ThermoFisher Scientific).

**[00733]** Для оценки конкуренции между FVIIa и антителами человека к TF, TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием антителами человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию

20 нМ FVII-Fc, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание FVII-Fc представляли как % связывания FVII-Fc =  $[\text{MFI}_{\text{меченых антителами клеток}} - \text{MFI}_{\text{неокрашенных клеток}}] / [\text{MFI}_{\text{IgG1 контрольных меченых клеток}} - \text{MFI}_{\text{неокрашенных клеток}}]$ . Процент связывания FVIIa (% FVIIa) в присутствии титров антител к TF относительно контроля без антител приведен в **Таблице 9** и представлен на **Фиг. 5А и 5В**.

**[00734]** Процент связывания FVIIa находится в диапазоне от около 76 % до около 102 % в присутствии антител в различных концентрациях из групп 25 и 43, включая 25А, 25А3, 25G, 25G1, 25G5, 25G9, 43В, 43В1, 43В7, 43D, 43D7, 43D8, 43Е и 43Еа.

**[00735]** Эти данные демонстрируют, что антитела к TF из групп 25 и 43 не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa. Эти данные также показывают, что антитела к TF из групп 25 и 43 имеют сайт связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa.

**Таблица 9:** Конкуренция антител к TF с FVIIa

Антитело	% FVIIa			
	9,25 нМ	28 нМ	83 нМ	250 нМ
1F	7	7	7	6
1G	7	7	7	6
25A	100	101	97	98
25A3	90	87	88	87
25A5	76	79	77	80
25G	97	96	93	92
25G1	97	93	94	95
25G9	93	93	91	89
29D	6	4	3	3
29E	5	3	2	2
39A	2	2	2	2
43B	99	95	93	91
43B1	97	95	93	91
43B7	98	98	97	97
43D	102	100	98	94
43D7	101	102	100	101
43D8	100	99	98	96
43E	95	92	91	89
43Ea	93	91	92	89
54E	11	3	3	2
Изотип	99	98	97	99

### Пример 7: Анализ передачи сигналов TF

**[00736]** Уровни белка IL-8 и GM-CSF измеряли, как описано ранее в Hjortoe et al., *Blood*, 2004, 103:3029-3037. TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, Вирджиния, США), которые подверглись 2-часовому сывороточному голоданию со средой Лейбовица L-15, инкубировали с 8-точечным титрованием 1: 2,5, начиная с 100 нМ антитела к TF. Через 30 мин при 37 °С к клеткам добавляли FVIIa (NovoSeven RT, Novo Nordisk, Багсваерд, Дания) до конечной концентрации 20 нМ. Через 5 часов супернатанты клеточных культур собирали и анализировали с помощью ИФА на IL8 или GM-CSF, как рекомендовано (R&D Biosystems, Миннеаполис, штат Миннесота, США). Стандартную кривую с использованием рекомбинантного IL8 или GM-CSF (R&D Biosystems, Миннеаполис, штат Миннесота, США) использовали в Prism для расчета концентрации цитокинов в супернатантах клеточных культур. Процент IL8 и GM-CSF (% IL8 и % GM-CSF) при сообщенной концентрации антител рассчитывали относительно контроля без антител. Концентрация IL8 при титровании антител к TF представлена на **Фиг. 6А и 6В**, а % IL8 при различных концентрациях антител показаны в **Таблице 10**. Концентрация GM-CSF при титровании антител к TF представлена на **Фиг. 6С и 6D**, а % IL8 при различных концентрациях антител показаны в **Таблице 11**.

**[00737]** Концентрации IL8 снижались более чем на 75 % в присутствии антител к TF при концентрациях, превышающих или равных 6,4 нМ. Концентрации GM-CSF снижались более чем на 60% в присутствии антител к TF при концентрациях, превышающих или равных 6,4 нМ.

**[00738]** Эти данные указывают на то, что все протестированные антитела к TF ингибируют FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

**Таблица 10:** Ингибирование IL8

Антитело	% IL8				
	100 нМ	40 нМ	16 нМ	6,4 нМ	2,56 нМ
1F	2	2	2	3	18
1G	2	2	3	4	26
25A	9	8	10	11	43
25A3	8	8	8	9	47
25A5	6	7	7	14	70
25G	9	10	16	22	60
25G1	9	8	9	12	46
25G9	13	14	15	22	51
29D	1	2	2	6	27
29E	2	2	2	5	33
39A	3	2	2	6	52
43B	4	4	5	11	50
43B1	5	5	6	12	56
43B7	4	4	8	15	55
43D	5	5	7	21	58
43D7	5	4	5	11	48
43D8	5	5	5	21	67

Антитело	% IL8				
	100 нМ	40 нМ	16 нМ	6,4 нМ	2,56 нМ
43E	5	5	6	15	49
43Ea	6	6	6	14	52
54E	2	2	3	8	48
Контроль	106	108	84	88	90

Таблица 11: Ингибирование GM-CSF

Антитело	% GM-CSF				
	100 нМ	40 нМ	16 нМ	6,4 нМ	2,56 нМ
1F	6	6	6	8	27
1G	7	7	7	9	34
25A	22	19	22	24	57
25A3	20	19	19	20	59
25A5	12	15	14	18	72
25G	19	18	32	39	77
25G1	17	16	17	18	48
25G9	25	26	26	34	60
29D	5	6	7	15	38
29E	6	6	5	9	33
39A	7	5	5	8	42
43B	14	13	12	21	59
43B1	11	11	13	16	50
43B7	11	11	13	17	50
43D	12	11	13	24	56
43D7	10	10	9	15	45
43D8	12	11	11	24	57
43E	14	15	15	21	61
43Ea	14	15	14	21	65
54E	5	5	5	10	38
Контроль	105	111	94	86	88

**Пример 8: Конкурентный анализ антител**

**[00739]** Антитела с Alexa Fluor получали с использованием сложных эфиров 5-сульфодихлорфенола Alexa Fluor 488 (ThermoFisher Scientific). Избыток красителя Alexa Fluor удаляли из препаратов конъюгата антитело-краситель посредством гель-фильтрации (ThermoFisher Scientific).

**[00740]** Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 25A, TF-с клетки A431 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 25A, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии.

Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 25А представляли как % связывания 25А =  $[\text{MFI}_{\text{меченых антителами клеток}} - \text{MFI}_{\text{неокрашенных клеток}}] / [\text{MFI}_{\text{IgG1 контрольных меченых клеток}} - \text{MFI}_{\text{неокрашенных клеток}}]$ .

**[00741]** Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 43Еа, TF-позитивные клетки А431 (АТСС, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 43Еа, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 43Еа представляли как % связывания 43Еа =  $[\text{MFI}_{\text{меченых антителами клеток}} - \text{MFI}_{\text{неокрашенных клеток}}] / [\text{MFI}_{\text{IgG1 контрольных меченых клеток}} - \text{MFI}_{\text{неокрашенных клеток}}]$ .

**[00742]** % связывания 25А и % связывания 43Еа представлены в **Таблице 12**. Антитела из группы 25 и группы 43 снижали % связывания 25А и % связывания 43Еа менее чем на 10 %.

**[00743]** Эти данные демонстрируют, что антитела группы 25 и антитела группы 43 конкурируют друг с другом за связывание с TF человека и могут связывать один и тот же или перекрывающийся эпитоп TF человека.

**Таблица 12:** Конкуренция антитела к TF с клоном антитела 25А или 43Еа

Антитело (100 нМ)	% связывания	
	25А	43Еа
1F	95	77
1G	75	58
25А	3	1
25G	7	3
29D	70	64
29Е	96	85
39А	99	96
43В	0	0
43D	0	0
43Е	0	0
54Е	99	96
Изотип	100	100

#### **Пример 9: Анализ жизнеспособности клеток**

**[00744]** Чтобы оценить интернализацию антител к TF, был проведен анализ цитотоксичности. Вкратце, клетки высевали в 384-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США) по  $4 \times 10^3$  клеток на лунку в 40 мкл среды. Антитела и вторичные антитела к Fc человека, конъюгированные с ингибитором тубулина монометилауристатином F (MMAF) (Moradec, Сан-Диего, штат Калифорния, США), серийно разводили, начиная с 5 и 30 нМ соответственно. Планшеты инкубировали в течение 3 суток с последующим лизисом в реагенте для анализа CellTiter-Glo (CTG) (Promega, Мэдисон, штат Висконсин, США). Люминесценцию CTG измеряли на планшет-ридере Envision, а среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов отображали на графике Prism. Для каждого антитела к TF  $\text{IC}_{50}$  и связанный с ней

95 % доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

**[00745]** На **Фиг. 7А и 7В** показана жизнеспособность клеток, на что указывает уровень люминесценции и рассчитанная IC<sub>50</sub>.

**[00746]** Эти данные демонстрируют, что все протестированные антитела к TF из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54 были эффективны в снижении жизнеспособности TF-позитивных клеток A431.

#### **Пример 10: Анализ образования тромбина (TGA)**

**[00747]** Анализ TGA проводили с использованием прибора для калиброванной автоматической тромбограммы (CAT), изготовленного и распространенного STAGO. Схема метода испытаний была эквивалентна стандартному анализу CAT, за исключением того, что источником плазмы была нормальная объединенная плазма (NPP) в цитрате с добавлением ингибитора кукурузного трипсина (цитрат/СТТ). Антитела к TF титровали при 0, 10, 50 и 100 нМ и смешивали с нормальной объединенной плазмой (NPP), собранной в 11 мМ цитрате с добавлением 100 мкг/мл ингибитора кукурузного трипсина (цитрат/СТТ). Повторно липидированный TF добавляли в 96-луночный аналитический планшет с последующим добавлением смеси антител/NPP. После 10-минутной инкубации или сразу после объединения повторно липидированного TF с антителом/NPP инициировали образование тромбина путем добавления кальция и субстрата тромбина. Программное обеспечение STAGO использовали для определения следующих параметров: пик Па (самая высокая полученная концентрация тромбина [нМ]); Время задержки (время до образования Па [мин]); ЕТР (потенциал эндогенного тромбина, площадь под кривой [нМ x мин]) и вдПика (время до пика Па [мин]). Также определяли процент пика образования тромбина (% пика Па) и процент потенциала эндогенного тромбина (% ЕТР) в присутствии каждого антитела относительно контроля плазмы без антител на том же планшете.

**[00748]** Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па и % ЕТР в присутствии каждого антитела, выбранного из 25А, 25А3, 25А5, 39А, 43В1, 43D7, 43Еа и М1593 без инкубации с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 37**. Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па и % ЕТР в присутствии каждого антитела, выбранного из 25А, 25А3, 25А5, 39А, 43В1, 43D7, 43Еа и М1593 с 10 минутной инкубацией с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 38**. % Пика Па в присутствии титров антител к TF без инкубации с антителом перед добавлением кальция и субстрата тромбина представлен в виде графика на **Фиг. 8А**. % Пика Па в присутствии титров антител к TF с 10 минутной инкубацией с антителом перед добавлением кальция и субстрата тромбина представлен в виде графика на **Фиг. 8В**. Антитело М1593 имеет последовательность VH SEQ ID NO: 821 и последовательность VL SEQ ID NO: 822.

**[00749]** % Пика Па составляет 95 % или более в присутствии антител из группы 25, включая 25А, 25А3 и 25А5, без предварительной инкубации с антителом. % Пика Па составляет 100% или более в присутствии антител из группы 25, включая 25А, 25А3 и 25А5, с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. % ЕТР составляет 99 % или более в присутствии тестируемых антител из группы 25.

**[00750]** % Пика Па больше 50 %, но равен или меньше 96 % в присутствии антител из группы 43, включая 43В1, 43D7 и 43Еа, и антитела к TF М1593 без предварительной инкубации с антителом. % Пика Па больше 40%, но равен или меньше 93% в присутствии антител из группы 43, включая 43В1, 43D7 и 43Еа,

и антитела к TF M1593 с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. % ЕТР составляет 92% или более в присутствии тестируемых антител из группы 43 и антителом M1593.

**[00751]** Эти данные демонстрируют, что антитела из групп 25 и 43 обеспечивают нормальное образование тромбина и, следовательно, не являются ингибиторами образования тромбина. Процент образования пика тромбина (% пика Па) больше в присутствии антител группы 25 по сравнению с антителами группы 43 и антителом M1593.

**Таблица 37:** Анализ образования тромбина без предварительной инкубации с антителом

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
3	25А	100	334	5,0	2390	8,7	96	105
		50	335	5,0	2380	8,7	96	104
		10	333	5,0	2387	8,6	95	104
3	25А3	100	343	5,0	2405	8,4	98	105
		50	349	5,0	2433	8,4	100	106
		10	350	5,0	2426	8,0	100	106
3	25А5	100	342	5,1	2393	8,5	98	105
		50	344	4,8	2317	8,1	98	101
		10	343	4,7	2270	8,0	98	99
3	39А	100	22	38,1	*	48,3	6	*
		50	29	33,1	*	43,2	8	*
		10	84	12,4	1332	20,7	24	58
3	43В1	100	223	4,8	2111	10,0	64	92
		50	239	4,9	2134	9,9	68	93
		10	303	5,1	2318	9,1	87	101
3	43D7	100	186	5,6	2105	12,2	53	92
		50	216	5,5	2183	11,3	62	96
		10	301	5,4	2338	9,3	86	102
3	43Еа	100	302	5,1	2347	9,1	87	103
		50	308	5,1	2392	8,8	88	105
		10	336	4,5	2305	7,8	96	101
3	M1593	100	242	5,1	2235	10,4	69	98
		50	270	5,1	2282	9,8	77	100
		10	322	5,1	2368	8,8	92	104
3	Изотип	100	347	5,0	2319	8,1	99	101
		50	348	5,0	2324	8,1	100	102
		10	348	5,0	2326	8,3	100	102
3	Контроль, плазма	Не анализирован	349	4,7	2285	7,7	100	100

\* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

**Таблица 38:** Анализ образования тромбина с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ·мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
3	25А	100	274	3,3	1879	7,0	103	106
		50	279	3,3	1876	7,0	105	106
		10	280	3,6	1872	7,0	105	106
3	25А3	100	290	3,4	1906	6,8	109	108
		50	291	3,6	1925	6,8	109	109
		10	287	3,3	1886	6,8	108	107
3	25А5	100	286	3,7	1883	7,0	107	107
		50	277	3,7	1803	7,0	104	102
		10	278	3,7	1808	7,0	104	102
3	39А	100	17	32,1	*	43,2	6	*
		50	21	29,0	*	39,7	8	*
		10	30	20,9	*	30,8	11	*
3	43В1	100	156	3,6	1701	9,3	58	96
		50	148	3,3	1667	9,6	55	94
		10	203	3,7	1776	8,2	76	101
3	43D7	100	120	3,7	1633	10,8	45	92
		50	131	3,7	1724	10,4	49	98
		10	197	3,7	1784	8,8	74	101
3	43Еа	100	244	3,3	1817	7,3	91	103
		50	246	3,3	1833	7,3	92	104
		10	247	3,3	1779	7,1	93	101
3	M1593	100	160	3,7	1737	9,4	60	98
		50	165	3,7	1739	9,3	62	99
		10	224	3,7	1807	8,0	84	102
3	Изотип	100	279	3,7	1829	7,2	105	104
		50	283	3,7	1839	7,0	106	104
		10	279	3,7	1814	7,1	105	103
3	Контроль, плазма	Не анализирован	267	3,7	1766	7,2	100	100

\* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

### Пример 11: Синтез конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)

**[00752]** Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) были синтезированы, как описано в Behrens et al., *Mol Pharm*, 2015, 12: 3986-98. 5 мг/мл антитела в фосфатно-солевом буфере (PBS), pH 7,4 разводили с помощью 2,5 молярных эквивалентов трис (2-карбокситетил) фосфина. Через 2 часа при 37 °C частично восстановленное антитело охлаждали до комнатной температуры и конъюгировали в течение 1 часа с 3-5 молярными эквивалентами MC-vc-PAB-MMAE (малеимидокапроил-валин-цитруллин-п-аминобензоилоксикарбонил-монометилауристатин E). Буфер реакционной смеси заменяли на PBS для удаления реагентов с малой молекулярной массой. Отношение лекарственное средство-антитело (DAR) полученных ADC составляло 3-4. DAR определяли по следующей формуле:  $\text{абсорбция (248 нм)} / \text{абсорбция (280 нм)} = (n \times E_{\text{PAB}[248 \text{ нм}]} + E_{\text{антитела [248 нм]}}) / (n \times E_{\text{PAB}[280 \text{ нм}]} + E_{\text{антитела [280 нм]}})$  с  $n$  в качестве переменной для DAR и  $E_x$  в качестве коэффициентов экстинкции PAB и антитела. Хроматография гидрофобного взаимодействия и эксклюзионная хроматография использовались соответственно для подтверждения оценки DAR на основе поглощения и для обеспечения того, чтобы препарат ADC был по меньшей мере на 95 % мономерным.

### Пример 12: Анализы цитотоксичности конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)

**[00753]** Для оценки цитотоксичности ADC, TF-позитивные клетки A431 и HPAF-II высевали в 384-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США) по  $4 \times 10^3$  клеток на лунку в 40 мкл среды. Антитела к TF, конъюгированные с MC-vc-PAB-MMAE, серийно разводили, начиная с 5 нМ. Планшеты инкубировали в течение 3-4 суток с последующим лизисом в реагенте для анализа CellTiter-Glo (CTG) (Promega, Мэдисон, штат Висконсин, США). Люминесценцию CTG измеряли на планшет-ридере Envision, а среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов отображали на графике Prism. Для каждого ADC  $IC_{50}$  и связанный с ней 95 % доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

**[00754]** На **Фиг.9А и 9В** показана жизнеспособность клеток, на что указывает свечение CTG и рассчитанная  $IC_{50}$  в TF-позитивных клетках A431 и HPAF-II, соответственно. ADC, содержащие антитела к TF из групп 25, 43 и 39, конъюгированные с MC-vc-PAB-MMAE, приводили к цитотоксичности в TF-позитивных клетках A431 и HPAF-II.

**[00755]** Эти данные показывают, что конъюгаты антитело к TF-лекарственное средство снижают жизнеспособность TF-позитивных клеток. *in vitro*.

### Пример 13: Исследования клеточной линии ксенотрансплантата

**[00756]** Исследования ксенотрансплантатов на мышах с ослабленным иммунитетом проводили для оценки эффективности ADC *in vivo*. TF-позитивную эпидермоидную карциному A431 и ксенотрансплантаты карциномы поджелудочной железы HPAF-II имплантировали подкожно в бок бестимусным голым мышам (Charles River Laboratories, Уилмингтон, штат Массачусетс). Животные были рандомизированы, когда опухоли достигли среднего размера 150-200 мм<sup>3</sup>, и им вводили 5 мг/кг указанного ADC или носителя (PBS) внутрибрюшинно (в/б) один раз в неделю в течение 3 недель. Оценку массы тела и размера опухоли проводили каждые две недели. Животных удаляли из исследования и умерщвляли, когда размер опухоли достигал 1200 мм<sup>3</sup> или становилось очевидным изъязвление кожи.

**[00757]** На Фиг. 10А и 10В показан размер опухоли в группах, которым вводили носитель, которым вводили ADC IgG1 и которым вводили ADC к TF, в моделях TF-позитивной эпидермоидной карциномы A431 и ксенотрансплантата карциномы поджелудочной железы HPAF-II, соответственно. ADC, содержащие антитела к TF 25А и 43Еа, конъюгированные с МС-vc-РАВ-ММАЕ, уменьшали размер опухоли в обеих моделях ксенотрансплантата по сравнению с группами, получавшими носитель или ADC IgG1.

**[00758]** Эти данные демонстрируют, что конъюгаты 25А-vc-ММАЕ и 43Еа-vc-ММАЕ антитело к TF-лекарственное средство были эффективны в уменьшении размера опухоли *in vivo*.

**Пример 14: Исследования модели ксенотрансплантата, полученного от пациента (PDX)**

**[00759]** TF-позитивная модель ксенотрансплантата, полученного от пациентов с раком головы и шеи, была создана на бестимусных голых мышцах (Envigo, Индианаполис, штат Индиана) для дальнейшей оценки эффективности ADC *in vivo*. Опухоли пассировали у животных и собирали для повторной имплантации. Подопытным животным в одностороннем порядке имплантировали в левый бок фрагменты опухоли и рандомизировали в группу лечения, когда опухоли достигали среднего размера 150-200 мм<sup>3</sup>. Животным вводили 5 мг/кг указанного ADC внутривентриально (в/б) один раз в неделю в течение 2 недель. Оценку массы тела и размера опухоли проводили каждые две недели. Животных удаляли из исследования и умерщвляли, когда размер опухоли достигал 1200 мм<sup>3</sup> или становилось очевидным изъязвление кожи.

**[00760]** На Фиг. 11 показан размер опухоли групп, получавших ADC IgG1 и ADC к TF, в модели ксенотрансплантата, полученного от пациента с раком головы и шеи. ADC, содержащие антитела к TF 25А и 43Еа, конъюгированные с МС-vc-РАВ-ММАЕ, уменьшали размер опухоли в модели ксенотрансплантата, полученного от больного раком, по сравнению с группой, получавшей ADC IgG1.

**[00761]** Эти данные демонстрируют, что конъюгаты 25А-vc-ММАЕ и 43Еа-vc-ММАЕ антитело к TF-лекарственное средство были эффективны в уменьшении размера опухоли *in vivo* в модели ксенотрансплантата рака, полученного от пациента.

**Пример 15: Анализ аффинности связывания с TF свиньи**

**[00762]** Проверяли способность некоторых антител связывать TF свиньи. Для измерений TF свиней на основе Вiasore, данное антитело к TF было захвачено антителом к IgG человека, ковалентно связанным с чипом CM5 (GE Healthcare Bio-Sciences). Связь между антителами к TF и пятиточечным трехкратным титрованием TF-His свиньи, начиная с 100 нМ, измеряли в течение 180-240 секунд. Затем измеряли диссоциацию между антителом к TF и TF-His в течение 1800 секунд. Кинетические данные были проанализированы и сглажены в глобальном масштабе с использованием модели связывания 1:1. Значения K<sub>D</sub> указанных антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Вiasore, показаны в Таблице 40.

**[00763]** Как показано в Таблице 40, антитела к hTF из групп 25 и 43, 25G9 и 43D8 проявляют активность связывания и перекрестную реактивность с TF свиньи.

**Таблица 40:** Кинетика антител в отношении TF свиней

Аг	K <sub>D</sub> (нМ) свиньи [стандартное отклонение]
1G	без связывания*
29D	без связывания*
25G9	3,31 [0,08]

Аг	К <sub>d</sub> (нМ) свиньи [стандартное отклонение]
43D8	12,9 [0,03]

без связывания\*: от полного отсутствия связывания до слабого связывания, без сообщаемой К<sub>d</sub>

#### Пример 16: Анализ связывания на основе клеток

**[00764]** TF-позитивные линии раковых клеток человека A431 и MDA-MB-231 и TF-позитивные линии клеток *Macaca mulatta* RF/6A были получены из Американской коллекции культур тканей (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) и культивировались в соответствии с рекомендациями.

**[00765]** Связывание антител на клеточной основе оценивали, как ранее описано в Liao-Chan et al., *PLoS One*, 2015, 10: e0124708, которая полностью включена посредством ссылки.  $1,2 \times 10^5$  клеток, собранных с помощью Cellstripper (Mediatech, Манассас, штат Вирджиния, США), инкубировали с двенадцатиточечным титрованием 1:3 антител IgG1 к TF человека, начиная с 250 нМ или 100 нМ в течение 2 часов на льду. После 2 промываний клетки, меченные антителом IgG1, инкубировали в течение 30 мин на льду с 150 нМ козьего фикоэритрина (PE) козьего F(ab')<sub>2</sub>-фрагмента к IgG человека, специфичного к фрагменту Fc $\gamma$  (Jackson ImmunoResearch, Уест-Гроув, штат Пенсильвания, США) или меченого FITC фрагмента козьего F(ab')<sub>2</sub> к каппа человека (SouthernBiotech, Бирмингем, штат Алабама, США), соответственно. После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, Бреа, штат Калифорния, США) или проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, Сан-Диего, штат Калифорния, США). Медианные интенсивности флуоресценции (MFI) для каждого разведения были нанесены на график и рассчитаны EC<sub>50</sub> клеток с использованием 4-параметрической модели связывания в Prism (GraphPad, Ла Джола, штат Калифорния, США). В анализ были включены антитела, которые существенно не влияют на конверсию FX (т.е. 25A, 25A3, 25G1, 43B1, 43D7 и 43Ea), и антитела, которые ингибируют конверсию FX более чем на 50 % (т.е. 1F, 29E, 39A и 54E). Результаты связывания антител к TF с TF-позитивными клетками A431 человека показаны на **Фиг. 12А**. Результаты связывания антител к TF с TF-позитивными клетками MDA-MB-231 человека показаны на **Фиг. 12В**.

**[00766]** Все протестированные антитела к hTF на **Фиг. 12А** проявляют высокую аффинность к TF-позитивным клеткам A431 человека с EC<sub>50</sub> в диапазоне от около 1,50 нМ до около 0,34 нМ. Контрольный изотип IgG1 не связывал клетки A431 (нет связывания, нс). Все протестированные антитела к hTF на **Фиг. 12В** проявляют высокую аффинность к TF-позитивным клеткам MDA-MB-231 человека с EC<sub>50</sub> в диапазоне от около 1,50 нМ до около 0,06 нМ. Контрольный изотип IgG1 не связывал клетки MDA-MB-231 (нет связывания, нс).

**[00767]** Как описано в **Примере 2** и показано в **Таблице 5**, аффинность связывания антител к hTF оценивали на TF яванского макака (*Macaca fascicularis*). Белковые последовательности TF *Macaca fascicularis* и TF *Macaca mulatta* идентичны. Связывание TF-специфических антител с яванской макакой подтверждали с использованием клеточной линии RF/6A *Macaca mulatta*, как показано в **Таблице 42**. Все протестированные антитела к hTF проявляют высокую аффинность к TF-позитивным клеткам RF/6A *Macaca mulatta* с EC<sub>50</sub> в диапазоне от около 1,28 нМ до около 0,17 нМ. Способность антител к TF связываться с клетками яванского макака является преимуществом для токсикологических исследований этих антител на моделях приматов, отличных от человека.

**Таблица 42:** Связывание антител к TF с клетками RF/6A *Macaca mulatta*

Аг	EC50 (нМ) RF/6A	95 % CI RF/6A
1F	0,17	от 0,14 до 0,21
25A	0,43	от 0,37 до 0,50
25A3	0,27	от 0,24 до 0,30
25G1	0,27	от 0,23 до 0,32
29E	0,53	от 0,46 до 0,61
39A	0,27	от 0,23 до 0,32
43B1	0,47	от 0,40 до 0,55
43D7	0,41	от 0,35 до 0,49
43Ea	0,92	от 0,83 до 1,01
54E	1,28	от 1,16 до 1,41

**Пример 17: Анализ связывания с TF, полученным от *E. coli***

**[00768]** TF, полученный от *E. coli* экспрессировали как слитый с сигнальной последовательностью OmpA и TF ECD-His6 и очищен с помощью аффинной и анионообменной хроматографии. Связывание антител к TF 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea и 54E с TF, полученным из Eхрi293 или *E. coli*, определяли с помощью исследований белков ИФА. Планшеты, покрытые TF-His, полученным из Eхрi293 или *E. coli*, инкубировали с возрастающими концентрациями антител. После инкубации с вторичным антителом, конъюгированным с HRP (Jackson Immunoresearch), были получены данные люминесценции, которые использовали для расчета EC<sub>50</sub> с 95 % доверительными интервалами с использованием Prism. Значения EC<sub>50</sub> и 95 % доверительные интервалы антител приведены в **Таблице 43**.

**Таблица 43:** Связывание антител к TF с TF, полученным из Eхрi293 или *E. coli*

Аг	EC50 (нМ) белка TF, полученного из Eхрi293	95 % CI белка TF, полученного из Eхрi293	EC50 (нМ) белка TF, полученного из <i>E. coli</i>	95 % CI белка TF, полученного из <i>E. coli</i>
1F	0,41	от 0,37 до 0,46	0,32	от 0,30 до 0,34
25A	0,54	от 0,49 до 0,60	0,35	от 0,30 до 0,41
25A3	0,47	от 0,39 до 0,56	0,36	от 0,31 до 0,42
25G1	0,42	от 0,36 до 0,47	0,31	от 0,29 до 0,33
29E	0,98	от 0,78 до 1,24	0,68	от 0,39 до 1,26
39A	0,45	от 0,39 до 0,53	0,34	от 0,28 до 0,40
43B1	0,57	от 0,53 до 0,61	0,39	от 0,34 до 0,44
43D7	0,71	от 0,62 до 0,80	0,43	от 0,35 до 0,53
43Ea	0,74	от 0,68 до 0,81	0,46	от 0,40 до 0,53
54E	0,96	от 0,73 до 1,29	0,38	от 0,22 до 0,62

**[00769]** Все протестированные антитела к hTF проявляют высокую аффинность к TF, полученному из *E. coli*, с EC<sub>50</sub> в диапазоне от около 0,68 нМ до около 0,31 нМ, что сопоставимо с аффинностью связывания

антител к TF, полученного из Expi293 (примерно от 0,98 до 0,41 нМ). Эти результаты показывают, что, хотя антитела к TF были отобраны против гликозилированного TF из линии клеток человека, эти антитела могут связываться с TF, полученным из *E.coli*, с аналогичной аффинностью при измерении с помощью белкового ИФА.

#### **Пример 18: Анализ образования тромбина (TGA)**

**[00770]** Анализ TGA проводили с использованием прибора для калиброванной автоматической тромбограммы (CAT), производимого и распространяемого компанией STAGO (Diagnostica Stago SAS, Анжер-сюр-Сен, Франция). См. Samama et al., *Thromb Res*, 2012, 129:e77-82, включенной в качестве ссылки во всей своей полноте. Схема метода испытаний была эквивалентна стандартному анализу CAT, за исключением того, что источником плазмы была нормальная объединенная плазма (NPP), собранная в 11 мМ цитрате с добавлением 100 мкг/мл ингибитора кукурузного трипсина (цитрат/CTI). Антитела к TF титровали при 0, 10, 50 и 100 нМ и смешивали с NPP в цитрате/CTI. Повторно липидированный TF добавляли в 96-луночный аналитический планшет с последующим добавлением смеси антител/NPP. После 10-минутной инкубации или сразу после объединения повторно липидированного TF с антителом/NPP инициировали образование тромбина путем добавления кальция и субстрата тромбина. Программное обеспечение STAGO использовали для определения следующих параметров: пик Па (самая высокая концентрация тромбина, полученная на кривой образования тромбина [нМ]); время задержки (время от начала анализа до момента образования 10 нМ тромбина [мин]); ЕТР (потенциал эндогенного тромбина, площадь под кривой [нМ x мин]); и вдПика (время от начала анализа до пика Па [мин]). Также определяли процент пикового образования тромбина (% пика Па), процент потенциала эндогенного тромбина (% ЕТР) и процент вдПика (% вдПика) в присутствии каждого антитела относительно контроля плазмы без антител на том же планшете. Используемый в данном документе термин «анализ образования тромбина» (TGA) относится к TGA, используемому в этом примере.

**[00771]** Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па, % ЕТР и % вдПика в присутствии каждого антитела, выбранного из 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea, 54E, TF-011, 5G9 и 10H10 без инкубации с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 44**. Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па, % ЕТР и % вдПика в присутствии каждого антитела, выбранного из 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea, 54E, TF-011, 5G9 и 10H10 с 10 минутной инкубацией с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 45**. Кривая образования тромбина в присутствии 100 нМ антитела к TF без предварительной инкубации с антителом построена на **Фиг. 13А и 13В**. Пиковая концентрация тромбина в присутствии титров антител к TF без предварительной инкубации с антителом построена на **Фиг. 13С**.

**[00772]** Как показано на **Фиг. 13А, 13В и 13С** и в **Таблице 44**, в условиях без предварительной инкубации с антителом при концентрации антитела 100 нМ 1F, 29E, 39A, 54E снижали концентрацию пика Па на 92, 76, 91 и 70 % соответственно. Точно так же 100 нМ 5G9 и TF-011 ингибировали пиковую концентрацию Па на 92 % и 91 % соответственно. Значительно сниженное образование тромбина в присутствии двух самых высоких концентраций 1F, 39A, 5G9 и TF-011 затрудняло расчеты образования эндогенного тромбина (ЕТР) и увеличивало время до пика Па/образования тромбина (вдПика) по меньшей мере на 284 % и 353 % при 50 нМ и 100 нМ соответственно. Напротив, антитела из группы 25 не влияли на пиковую концентрацию Па или вдПика более чем на 9 %. Антитела группы 43 и 10H10 проявляли слабое

влияние на пиковую концентрацию Па: 100 нМ 43В1, 43D7, 43Еа и 10Н10 снижали пиковую концентрацию Па на 33, 44, 13 и 34 % соответственно. Кроме того, 100 нМ 43В1, 43D7 и 10Н10 продемонстрировали увеличение вдПика по меньшей мере на 29 %. Однако наблюдаемое снижение концентрации пика Па и задержка вдПика для антител группы 43 и 10Н10 не привели к снижению ЕТР более чем на 10 %.

**[00773]** Сходные результаты показаны в **Таблице 45** в условиях 10-минутной предварительной инкубации с антителом. При концентрации антитела 100 нМ 1F, 29E, 39A, 54E снижали концентрацию пика Па на 93, 72, 93 и 87 % соответственно. Точно так же 100 нМ 5G9 и TF-011 ингибировали пиковую концентрацию Па на 92 % и 91 % соответственно. Значительно сниженное образование тромбина в присутствии двух самых высоких концентраций 1F, 39A, 54E и TF-011 и всех протестированных концентраций 5G9 затрудняло расчеты образования эндогенного тромбина (ЕТР) и увеличивало время до пика Па/образования тромбина (вдПика) по меньшей мере на 303 % и 371 % при 50 нМ и 100 нМ соответственно. Напротив, антитела из группы 25 не снижали пиковую концентрацию Па и не увеличивали вдПика. Антитела группы 43 и 10Н10 проявляли слабое влияние на пиковую концентрацию Па: 100 нМ 43В1, 43D7, 43Еа и 10Н10 снижали пиковую концентрацию Па на 41, 56, 13 и 48 % соответственно. Кроме того, 100 нМ 43В1, 43D7 и 10Н10 продемонстрировали увеличение вдПика по меньшей мере на 33 %. Однако наблюдаемое снижение концентрации пика Па и задержка вдПика для антител группы 43 и 10Н10 не привели к снижению ЕТР более чем на 11 %.

**[00774]** В целом, эти результаты демонстрируют, что антитела группы 25 полностью инертны на предпоследнем этапе каскада коагуляции, когда принимаются во внимание все три параметра TGA (ЕТР, пиковая концентрация Па и вдПика).

**Таблица 44:** Анализ образования тромбина без предварительной инкубации с антителом

Планшет	Образец	Конц. Ат (нМ)	Пик Па [нМ] (SD)	Время задержки (мин) (SD)	ЕТР [нМ•мин] (SD)	вдПика [мин] (SD)	% Пика Па	% ЕТР	% вдПика
1	1F	100	25 (1)	31 (1)	*	41 (0,7)	8	*	419
		50	31 (0)	25,6 (0,3)	*	35,3 (0,3)	9	*	347
		10	155 (1)	8,2 (0,2)	1738 (25)	14,9 (0,2)	47	86	89
1	25A	100	317 (6)	5,2 (0,2)	2134 (28)	8,6 (0,2)	95	105	9
		50	317 (2)	5,2 (0,2)	2122 (30)	8,6 (0,2)	95	105	9
		10	322 (2)	5 (0)	2108 (29)	8,2 (0,2)	97	104	4
1	25A3	100	323 (1)	4,6 (0,2)	2031 (19)	7,9 (0,2)	97	100	0

		50	328 (2)	4,7 (0)	2080 (23)	8 (0)	98	103	1
		10	326 (4)	5,3 (0)	2152 (14)	8,4 (0,2)	98	106	6
1	25G1	100	340 (3)	5,3 (0)	2160 (27)	8,3 (0)	102	107	5
		50	346 (6)	5,1 (0,2)	2221 (40)	8,2 (0,2)	104	110	4
		10	337 (1)	4,7 (0)	2061 (34)	7,8 (0,2)	101	102	-1
1	29E	100	81 (0)	17,1 (0,2)	1257 (18)	26,2 (0,2)	24	62	232
		50	95 (1)	14,1 (0,2)	1365 (26)	22,6 (0,4)	29	67	186
		10	235 (3)	7 (0)	1926 (9)	11,7 (0)	71	95	48
1	Изотип	100	326 (3)	5,3 (0)	2132 (13)	8,6 (0,2)	98	105	9
		50	331 (3)	5,3 (0)	2177 (19)	8,3 (0)	99	108	5
		10	328 (4)	5,3 (0)	2129 (26)	8,4 (0,2)	98	105	6
1	TF-011	100	30 (1)	26 (0,3)	*	35,8 (0,2)	9	*	353
		50	39 (3)	21,3 (0,5)	*	30,3 (1,1)	12	*	284
		10	156 (7)	8 (0)	1714 (41)	14,7 (0,5)	47	85	86
1	5G9	100	27 (1)	29,9 (0,4)	*	39,6 (0,4)	8	*	401
		50	28 (0)	25,1 (0,4)	*	34,6 (0,2)	8	*	338
		10	79 (1)	10,4 (0,2)	1176 (16)	18,6 (0,2)	24	58	135
1	10H10	100	221 (4)	5,2 (0,2)	1945 (37)	10,2 (0,2)	66	96	29
		50	248 (3)	5,2 (0,2)	1978 (32)	9,8 (0,3)	74	98	24
		10	310 (2)	5,2 (0,2)	2036 (33)	8,6 (0,2)	93	101	9

1	Контроль, плазма	Не анализирован	333 (0)	4,7 (0)	2023 (30)	7,9 (0,2)	100	100	0
2	39А	100	29 (0)	34,7 (0)	*	44,6 (0,2)	9	*	465
		50	36 (1)	29,8 (0,7)	*	39,3 (0,7)	11	*	397
		10	122 (3)	10,8 (0,3)	1694 (57)	18,6 (0,2)	37	84	135
2	43В1	100	238 (4)	5,3 (0)	2300 (32)	10,8 (0,2)	67	99	37
		50	258 (5)	5,2 (0,2)	2301 (29)	10,2 (0,2)	72	99	29
		10	317 (1)	5 (0)	2341 (34)	8,6 (0,2)	89	101	9
2	43D7	100	199 (6)	5,1 (0,2)	2124 (27)	11,2 (0,2)	56	91	42
		50	234 (1)	5 (0)	2190 (15)	10,3 (0)	66	94	30
		10	312 (3)	5 (0)	2343 (49)	8,9 (0,2)	88	101	13
2	43Еа	100	308 (2)	5 (0)	2349 (9)	9 (0)	87	101	14
		50	316 (3)	5 (0)	2430 (69)	8,7 (0)	89	105	10
		10	337 (4)	5 (0)	2416 (82)	8,3 (0)	95	104	5
2	54Е	100	108 (3)	12,2 (0,2)	1589 (13)	20,2 (0,2)	30	68	156
		50	191 (2)	8 (0)	2109 (51)	14,3 (0)	54	91	81
		10	311 (5)	5 (0)	2275 (41)	8,8 (0,2)	87	98	11
2	Изотип	100	351 (2)	4,7 (0)	2304 (14)	7,9 (0,2)	99	99	0
		50	353 (1)	5 (0)	2391 (29)	8,2 (0,2)	99	103	4
		10	348 (1)	5 (0)	2367 (9)	8,3 (0)	98	102	5

2	Контроль, плазма	Не анализирован	356 (1)	4,9 (0,2)	2323 (76)	8,11 (0,3)	100	100	3
---	------------------	-----------------	---------	-----------	-----------	------------	-----	-----	---

\* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

**Таблица 45:** Анализ образования тромбина с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом

Планшет	Образец	Конц. Ат (нМ)	Пик Па [нМ] (SD)	Время задержки (мин) (SD)	ЕТР [нМ•мин] (SD)	вдПика [мин] (SD)	% Пика Па	% ЕТР	% вдПика
1	1F	100	20 (1)	29,5 (0,2)	*	40,8 (0,6)	7	*	483
		50	23 (0)	26,5 (0,7)	*	37,3 (0,4)	8	*	433
		10	44 (2)	13,8 (0,5)	742 (23)	22,4 (0,4)	16	41	220
1	25A	100	291 (3)	3,3 (0,1)	1964 (36)	6,7 (0,1)	106	108	-4
		50	290 (0)	3,3 (0,1)	1972 (22)	6,8 (0)	106	108	-3
		10	284 (1)	3,3 (0,1)	1899 (21)	6,8 (0)	104	104	-3
1	25A3	100	290 (3)	3,1 (0)	1893 (28)	6,4 (0)	106	104	-9
		50	284 (4)	3,1 (0)	1875 (16)	6,4 (0)	104	103	-9
		10	288 (3)	3,1 (0)	1901 (26)	6,4 (0)	105	105	-9
1	25G1	100	311 (3)	3,1 (0)	1954 (20)	6,3 (0,1)	114	107	-10
		50	311 (1)	3,1 (0)	1951 (22)	6,1 (0)	114	107	-13
		10	302 (3)	3,1 (0)	1877 (33)	6,1 (0)	110	103	-13
1	29E	100	76 (1)	14,7 (0,1)	1201 (24)	24,3 (0,3)	28	66	247
		50	83 (1)	14,1 (0)	1300 (17)	23,6 (0,1)	30	72	237

		10	98 (1)	9,4 (0)	1408 (11)	18,1 (0)	36	77	159
1	Изотип	100	288 (2)	3,4 (0)	1922 (28)	6,8 (0)	105	106	-3
		50	292 (2)	3,4 (0)	1921 (25)	6,8 (0)	107	106	-3
		10	290 (3)	3,4 (0)	1926 (38)	6,8 (0)	106	106	-3
1	TF-011	100	26 (0)	23,8 (1,1)	*	34,2 (0,9)	9	*	389
		50	27 (1)	22,4 (0,1)	*	33 (0,1)	10	*	371
		10	46 (3)	13,5 (0,5)	792 (55)	22,5 (0,2)	17	44	221
1	5G9	100	22 (0)	26,7 (0,3)	*	37,5 (0,5)	8	*	436
		50	23 (3)	23,6 (2,2)	*	34 (2,4)	8	*	386
		10	30 (1)	19,3 (0,4)	*	29 (0,8)	11	*	314
1	10Н10	100	169 (3)	3,4 (0)	1795 (36)	9,3 (0,1)	62	99	33
		50	175 (4)	3,4 (0)	1754 (20)	9,2 (0,1)	64	96	31
		10	235 (8)	3,4 (0)	1807 (42)	7,8 (0)	86	99	11
1	Контроль, плазма	Не анализирован	274 (1)	3,4 (0)	1818 (24)	7 (0,1)	100	100	0
2	39А	100	19 (1)	33,6 (0,7)	*	44,6 (0,9)	7	*	537
		50	22 (0)	30,7 (0,1)	*	41,4 (0,1)	8	*	491
		10	36 (1)	19,6 (0,7)	*	29,3 (0,8)	13	0	319
2	43В1	100	167 (0)	4 (0)	1806 (15)	9,8 (0,1)	59	98	40
		50	174 (1)	3,8 (0,1)	1831 (22)	9,6 (0)	62	99	37
		10	222 (5)	3,7 (0,1)	1841 (37)	8,3 (0)	79	100	19

2	43D7	100	123 (2)	4 (0)	1673 (27)	11,5 (0,1)	44	91	64
		50	122 (1)	3,7 (0,1)	1639 (29)	11,3 (0)	43	89	61
		10	194 (5)	4 (0)	1796 (35)	8,8 (0,1)	69	97	26
2	43Ea	100	244 (2)	3,5 (0,1)	1857 (42)	7,5 (0,1)	87	101	7
		50	245 (0)	3,6 (0)	1851 (29)	7,6 (0)	87	100	9
		10	262 (1)	3,6 (0)	1877 (15)	7,3 (0)	93	102	4
2	54E	100	37 (1)	22,3 (0,2)	*	33 (0,5)	13	*	371
		50	44 (1)	18,3 (0,4)	*	28,2 (1)	16	*	303
		10	121 (4)	6,5 (0,1)	1523 (20)	13,7 (0,3)	43	83	96
2	Изотип	100	275 (2)	3,6 (0)	1862 (23)	7,3 (0)	98	101	4
		50	284 (0)	3,6 (0)	1899 (15)	7,2 (0,1)	101	103	3
		10	281 (3)	3,6 (0)	1877 (13)	7,3 (0)	100	102	4
2	Контроль, плазма	Не анализирован	282 (2)	3,8 (0,1)	1845 (22)	7,3 (0)	100	100	4

\* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ETP.

**Пример 19: Анализ конверсии FXa и анализ конкуренции FVIIa с ранее описанными антителами к TF**

**[00775]** Описанные ранее TF-специфические антитела TF-011, 5G9 и 10H10 (Breij et al., *Cancer Res*, 2014, 74:1214-1226; Versteeg et al., *Blood*, 2008, 111:190-199; каждый из которых полностью включен посредством ссылки в полном объеме) были протестированы в анализе конверсии FXa и конкурентном анализе FVIIa.

**[00776]** Чтобы оценить способность TF: FVIIa превращать FX в FXa в присутствии антител человека к TF, проводили клеточный анализ конверсии FX, как описано в Larsen et al., *J Biol Chem*, 2010, 285:19959-19966, который полностью включен посредством ссылки. Вкратце,  $5 \times 10^4$  клеток MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) высевали в обработанные тканевой культурой черные 96-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США) и культивировали в течение ночи. После удаления среды для культивирования клеток и добавления конечной концентрации 200 нМ FX в

буфере HEPES с 1,5 mM CaCl<sub>2</sub> клетки инкубировали с титрами антител в течение 15 мин при 37 °C. После восстановления бинарного комплекса TF: FVIIa с конечной концентрацией 20 нМ FVIIa клетки инкубировали в течение 5 минут при 37 °C. После гашения реакции этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) в черных 96-луночных планшетах, образовавшийся FXa измеряли с помощью 50 мкМ флуорогенного субстрата на основе 6-амино-1-нафталинсульфонамида SN-7 (Haematologic Technologies, Эссекс-Джанкшен, штат Вермонт, США) на планшет-ридере Envision, оборудованном фильтром возбуждения Umbelliferone 355, эмиссионным фильтром Umbelliferone 460 и верхним зеркалом LANCE/DELTA (Perkin Elmer, Волтам, штат Массачусетс, США). Процент превращения FXa (% FXa) в присутствии титра антител к TF по сравнению с контролем без антител представлен на **Фиг. 14А**.

**[00777]** Для оценки конкуренции между FVIIa и антителами человека к TF, TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием антителами человека к TF или изотипическому контролю. Затем к смеси антитело-клетки добавляли FVII-Fc, конъюгированный с Alexa488, до конечной концентрации 20 нМ. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции (MFI). Связывание FVII-Fc представляли как % связывания FVII-Fc =  $[MFI_{\text{меченых антителами клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}] / [MFI_{\text{IgG1 контрольных меченых клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}]$ . Процент связывания FVIIa (% FVIIa) в присутствии титрования антител к TF относительно изотипического контроля представлен на **Фиг. 14В**.

**[00778]** Как показано на **Фиг. 14А**, TF-011 и 5G9 ингибировали конверсию FX на 57-59 % и 67-70 % при концентрациях 25, 50 и 100 нМ. 10H10 существенно не ингибировало конверсию FX при этих трех концентрациях.

**[00779]** Как показано на **Фиг. 14В**, TF-011 эффективно конкурировал с FVII, тогда как 5G9 и 10H10 показали конкуренцию менее 25 % и 10 % при наивысшей концентрации антитела соответственно.

**[00780]** Эти результаты показывают, что 5G9 преимущественно конкурирует со связыванием субстрата FX, что приводит к наблюдаемому ингибированию конверсии FX и образования тромбина. TF-011 ингибирует образование тромбина, конкурируя с FVIIa за связывание с TF. Однако 10H10 ингибирует передачу сигналов, опосредованную TF-FVIIa, без существенного влияния на связывание FVIIa с TF. Эти результаты согласуются с предыдущими наблюдениями, описанными в Huang et al., *J Mol Biol*, 1998, 275:873-894; Ruf et al., *Biochem J*, 1991, 278:729-733 и Teplyakov et al., *Cell Signal*, 2017, 36:139-144; каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

#### **Пример 20: Конкурентный анализ антител**

**[00781]** Антитела с Alexa Fluor получали с использованием сложных эфиров 5-сульфодихлорфенола Alexa Fluor 488 (ThermoFisher Scientific) согласно протоколу производителя. Избыток красителя Alexa Fluor удаляли из препаратов конъюгата антитело-краситель посредством гель-фильтрации (ThermoFisher Scientific).

**[00782]** Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 25A3, TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 25A3, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки

промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 25A3 представляли как % связывания  $25A3 = [MFI_{\text{меченых антителами клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}] / [MFI_{IgG1 \text{ контрольных меченых клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}]$ .

**[00783]** Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 43D7, TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 43D7, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 43D7 представляли как % связывания  $43D7 = [MFI_{\text{меченых антителами клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}] / [MFI_{IgG1 \text{ контрольных меченых клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}]$ .

**[00784]** Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 39A, TF-с клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 39A, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 39A представляли как % связывания  $39A = [MFI_{\text{меченых антителами клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}] / [MFI_{IgG1 \text{ контрольных меченых клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}]$ .

**[00785]** % связывания 25A3, % связывания 43D7 и % связывания 39A представлены на **Фиг. 15А и 15В**, **Фиг. 16А и 16В**, и **Фиг. 17А и 17В**, соответственно. Антитела из групп 25 и 43, 5G9 и 10H10 снижали % связывания 25A3 и % связывания 43D7 и не снижали % связывания 39A. Антитела из групп 1, 29, 39 и 54 и TF-011 снижали % связывания 39A и не снижали % связывания 25A3 и % связывания 43D7.

**[00786]** Хотя результаты конкурентного анализа антител показывают, что антитела групп 25 и 43, 5G9 и 10H10 могут связываться с одним и тем же или перекрывающимся эпитопом TF человека или могут влиять на связывание TF друг с другом посредством аллостерического механизма, эксперименты по картированию химерных конструкций TF, описанные в другом месте в данном документе, демонстрируют, что антитела группы 25, антитела группы 43, 5G9 и 10H10 связывают различные эпитопы. Кроме того, хотя результаты конкурентного анализа антител демонстрируют, что антитела групп 1, 29, 39 и 54 и TF-011 могут связываться с одним и тем же или перекрывающимся эпитопом TF человека или могут влиять на связывание TF друг с другом через аллостерический механизм, эксперименты по картированию химерных конструкций TF, описанные в другом месте в данном документе, демонстрируют, что антитела групп 29, 39 и 54 связывают эпитопы, отличные от эпитопа TF-011.

#### **Пример 21: Интернализация антител к TF**

**[00787]** Для оценки интернализации антител к TF был проведен анализ цитотоксичности, как описано в Liao-Chan et al., *PLoS One*, 2015, 10:e0124708, который полностью включен посредством ссылки. Вкратце, клетки высевали в 384-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США) по  $4 \times 10^3$  клеток на лунку в 40 мкл среды. Антитела и Fab к Fc человека, конъюгированные с ингибитором тубулина монометилауристатином F (MMAF) (Moradec, Сан-Диего, штат Калифорния, США), серийно

разводили, начиная с 5 и 30 нМ соответственно. Fab к Fc человека, конъюгированные с MMAF, состояли из поликлональных антител, специфичных к Fc-области IgG человека, с DAR от 1,2 до 1,5. Планшеты инкубировали в течение 3 суток с последующим лизисом в реагенте для анализа CellTiter-Glo (CTG) (Promega, Мэдисон, штат Висконсин, США). Люминесценцию CTG измеряли на планшет-ридере Envision, а среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов отображали на графике Prism (GraphPad, Ла-Хойя, штат Калифорния, США). Для каждого антитела к TF IC<sub>50</sub> и связанный с ней 95 % доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания. Результаты жизнеспособности клеток после инкубации с антителами к TF и комплексами Fab антитела к TF: MMAF показаны на **Фиг. 18А и 18В**. 95 % доверительные интервалы для значений IC<sub>50</sub> показаны в **Таблице 46**.

**[00788]** Интернализацию антител к TF также оценивали с помощью количественного анализа, основанного на интернализированной флуоресценции и тушенной поверхностной флуоресценции. Тушение флуоресценции клеточной поверхности оценивали, как описано в Liao-Chan et al., *PLoS One*, 2015,10:e0124708. Вкратце, 1,2x10<sup>5</sup> клеток MDA-MB-231 предварительно инкубировали со 100 нМ конъюгированных с A488 антител в среде в течение 2 часов на льду. После 2 промываний клетки ресуспендировали в холодной среде и подвергали импульсной обработке до 4 часов при 37 °С. Клетки быстро охлаждали и инкубировали с или без 300 нМ антитела к A488 (клон 19А) в течение 30 минут на льду. После двух промываний мертвые клетки метили DAPI, и образцы анализировали на проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences). Медианные интенсивности флуоресценции (MFI) при каждой концентрации мАт к A488 нормализовали относительно изотипического контроля для получения нормализованного процента MFI. Интернализированная флуоресценция рассчитывалась на основе данных по замороженным и непогашенным образцам с поправкой на неполное гашение поверхности:  $1 - (N_1 - Q_1) / (N_1 - (N_1 Q_0 / N_0))$  с N<sub>1</sub> = непогашенная MFI в каждый момент времени (t<sub>1</sub>); Q<sub>1</sub> = погашенная MFI в t<sub>1</sub>; Q<sub>0</sub> = погашенная MFI для образца, хранящегося на льду (t<sub>0</sub>); N<sub>0</sub> = непогашенная MFI в t<sub>0</sub>. Процент интернализации антител к TF, конъюгированных с A488, показан на **Фиг. 18С**.

**[00789]** Поскольку Fab: MMAF связывает Fc-область TF-специфических антител, клеточное поглощение этих комплексов может вызвать гибель клеток. Хотя одни только TF-специфические антитела не влияли на жизнеспособность клеток в трехдневных культурах TF-позитивных клеток A431 (**Фиг.18А**), TF-специфические антитела в комплексе с Fab: MMAF показали дозозависимое уничтожение клеток со значениями IC<sub>50</sub> в диапазоне от 0,07 до 0,14 нМ (**Фиг. 18В**).

**[00790]** Поглощение клетками подтверждалось флуоресцентно мечеными TF-специфическими антителами. В количественном анализе, основанном на интернализированной флуоресценции и тушении поверхностной флуоресценции, TF-специфические антитела показали интернализацию от 28 до 37 % после 4-часовой инкубации (**Фиг. 18С**).

**[00791]** Эти результаты показывают, что тестируемые антитела к TF могут лечить интернализацию и доставку токсина в TF-позитивные клетки.

**Таблица 46:** Данные ADC с ранжированием (непрерывная инкубация)

	<b>Клеточная</b>	A431	A431	MDA-MB-231	HPAF-II	<b>Ранг непрерывного</b>
--	------------------	------	------	------------	---------	--------------------------

	линия:												первичного ADC	
	Формат ADC:	Вторичный ADC			Первичный ADC			Первичный ADC			Первичный ADC			
	Лечение:	Непрерывно			Непрерывно			Непрерывно			Непрерывно			
	Фиг.:	Фиг. 18B			Фиг. 20A			Фиг. 22D			Фиг. 22E			
	Данные связи:	IC <sub>50</sub> (нМ)	95 % CI	ранг	IC <sub>50</sub> (нМ)	95 % CI	ранг	IC <sub>50</sub> (нМ)	95 % CI	ранг	IC <sub>50</sub> (нМ)	95 % CI		ранг
Ангилелю:	1F	0,07	от 0,06 до 0,07	Не включено	Не тестировалось			Не тестировалось			Не тестировалось			Не включено
	25A	0,11	от 0,10 до 0,11	6	0,09	от 0,08 до 0,09	7	0,14	от 0,12 до 0,16	7	0,06	от 0,05 до 0,07	8	7
	25A3	0,09	от 0,08 до 0,09	3	0,07	от 0,07 до 0,08	5	0,11	от 0,10 до 0,12	4	0,05	от 0,04 до 0,05	5	4
	25G1	0,08	от 0,07 до 0,08	1	0,06	от 0,06 до 0,06	3	0,09	от 0,08 до 0,10	3	0,04	от 0,04 до 0,05	3	3
	29E	0,10	от 0,09 до 0,10	4	0,06	от 0,05 до 0,06	2	0,07	от 0,07 до 0,08	2	0,04	от 0,04 до 0,05	2	2
	39A	0,08	от 0,08 до 0,09	2	0,05	от 0,05 до 0,05	1	0,05	от 0,05 до 0,05	1	0,04	от 0,03 до 0,05	1	1
	43B1	0,12	от 0,11 до 0,13	7	0,08	от 0,08 до 0,08	6	0,14	от 0,13 до 0,15	5	0,05	от 0,04 до 0,06	4	5
	43D7	0,10	от 0,10 до 0,10	5	0,06	от 0,06 до 0,07	4	0,14	от 0,12 до 0,16	6	0,05	от 0,05 до 0,06	6	6
	43Ea	0,13	от 0,13 до 0,14	8	0,09	от 0,09 до 0,10	8	0,15	от 0,13 до 0,17	8	0,06	от 0,05 до 0,06	7	8
54E	0,11	от 0,11 до 0,12	Не включено	0,07	от 0,07 до 0,07	Не включено	Не тестировалось			Не тестировалось			Не включено	

			че но			ю че но				
Изот ип	Не применимо		Не применимо			Не применимо		Не применимо		Не включе но
TF- 011	Не тестировалось		0,0 5	от 0,05 до 0,05		Не тестировалось		Не тестировалось		Не включе но

Таблица 47: Данные ADC с ранжированием (4 ч инкубация)

	Клеточная линия:	A431			A431			Ранг 4 ч первично го ADC
	Формат ADC:	Первичный ADC			Первичный ADC			
	Лечение:	4 ч, с последующим вымыванием			4 ч, с последующим вымыванием			
	Фиг.:	Фиг. 20B			Фиг. 21A			
	Измерение:	IC <sub>50</sub> (нМ)	95 % CI	ран г	IC <sub>50</sub> (нМ)	95 % CI	ран г	
Антител о:	1F	Не тестировалось			Не тестировалось			Не включено
	25A	0,35	от 0,32 до 0,39	6	0,18	от 0,17 до 0,19	6	6
	25A3	0,19	от 0,17 до 0,21	3	0,12	от 0,11 до 0,12	3	3
	25G1	0,19	от 0,17 до 0,20	2	0,10	от 0,09 до 0,10	2	2
	29E	0,20	от 0,18 до 0,21	4	0,13	от 0,12 до 0,14	4	4
	39A	0,12	от 0,11 до 0,13	1	0,09	от 0,09 до 0,10	1	1
	43B1	0,36	от 0,32 до 0,41	7	0,19	от 0,17 до 0,20	7	7
	43D7	0,28	от 0,25 до 0,30	5	0,14	от 0,13 до 0,15	5	5
	43Ea	0,43	от 0,39 до 0,48	8	0,24	от 0,22 до 0,25	8	8
	54E	0,26	от 0,24 до 0,29		0,20	от 0,18 до 0,22		Не включено

	Изотип	Не применимо			Не применимо			Не включено
	TF-011	0,17	от 0,16 до 0,18		0,09	от 0,09 до 0,10	Не включено	

**Пример 22: Анализ связывания на основе клеток конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)**

**[00792]** Для оценки свойств связывания ADC с клетками, связывание антител к TF и ADC к TF с эндогенными клетками TF человека, экспрессирующими НСТ116, оценивали, как описано ранее в Liao-Chan et al., *PLoS One*, 2015, 10:e0124708, который полностью включен посредством ссылки. Вкратце,  $1,2 \times 10^5$  клеток, собранных с помощью Cellstripper (Mediatech, Манассас, штат Вирджиния, США), инкубировали с 12-точечным разведением 1:3 антитела к TF человека или ADC, начиная с 100 нМ в течение 2 часов на льду. После 2 промываний клетки, меченные антителом или ADC, инкубировали в течение 30 мин на льду с 150 нМ козьего фикоэритрина (PE) козьего F(ab')<sub>2</sub>-фрагмента к IgG человека, специфичного к фрагменту Fc $\gamma$  (Jackson ImmunoResearch, Уест-Гроув, штат Пенсильвания, США) или меченого FITC фрагмента козьего F(ab')<sub>2</sub> к каппа человека (SouthernBiotech, Бирмингем, штат Алабама, США), соответственно. После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, Бреа, штат Калифорния, США) или проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, Сан-Диего, штат Калифорния, США). Медианные интенсивности флуоресценции (MFI) для каждого разведения были нанесены на график и рассчитаны EC<sub>50</sub> клеток с использованием 4-параметрической модели связывания в Prism (GraphPad, Ла Джола, штат Калифорния, США). На **Фиг. 19А и 19В** представлены кривые связывания антител к TF и ADC к TF, соответственно. На **Фиг. 19С** приведены регистрируемые EC<sub>50</sub> клеток и их 95 % доверительные интервалы для антител и ADC к TF.

**[00793]** Как показано на **Фиг. 19А, 19В и 19С**, свойства связывания клеток TF-специфическими ADC сравнимы со свойствами связывания клеток TF-специфическими антителами, что указывает на то, что процесс конъюгации ADC не изменяет свойства связывания клеток фрагментом TF-специфического антитела ADC.

**Пример 23: Анализы цитотоксичности конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)**

**[00794]** Для оценки цитотоксичности ADC клетки A431 высевали в 384-луночные планшеты (Greiner Bio-One). Антитела к TF, конъюгированные с MC-vc-PAВ-ММАЕ, серийно разводили, как показано. TF-специфические ADC добавляли к клеткам A431 либо с инкубацией в течение 72 часов, либо с инкубацией в течение 4 часов с последующим удалением избытка ADC и культивированием еще в течение 68 часов. Клетки A431 лизировали в реагенте для анализа CTG после введения. Измеряли люминесценцию CTG, а среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов отображали на графике Prism. Для каждого ADC IC<sub>50</sub> и связанный с ней 95 % доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

**[00795]** На **Фиг. 20А** показана жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF при непрерывной 72-часовой инкубации. На **Фиг. 20В** показана жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF с 4-

часовой инкубацией с последующим удалением избытка ADC и культивированием в течение еще 68 часов. На **Фиг. 20С** показаны регистрируемые значения  $IC_{50}$  ADC как при непрерывном, так и при импульсном введении. 95 % доверительные интервалы для  $IC_{50}$  непрерывного введения и импульсного введения приведены в **Таблице 46** и **Таблице 47** соответственно.

**[00796]** Оба введения приводили к эффективному уничтожению клеток с увеличением  $IC_{50}$  в 2,4-4,7 раза при удалении избытка ADC из культуры после 4-часовой инкубации по сравнению с 72-часовой инкубацией. Удаление избыточных 25A3 и 39A ADC оказало наименьшее влияние на  $IC_{50}$ , с увеличением в 2,7 и 2,4 раза с 0,07 и 0,05 нМ соответственно.

**[00797]** Эти результаты показывают, что, подобно TF-специфическим антителам, TF-специфические ADC претерпевают существенную клеточную интернализацию.

#### **Пример 24: Анализы цитотоксичности в присутствии FVIIa**

**[00798]** Чтобы понять, влияет ли FVIIa на активность TF-специфичного ADC, мы обрабатывали клетки A431 в течение 4 часов с TF-специфическими ADC (антитела против TF, конъюгированные с MC-vc-PAВ-ММАЕ) в отсутствие или в присутствии FVIIa и через 68 часов измерили жизнеспособность клеток. Клетки A431 предварительно инкубировали в течение 30 мин без или с 50 нМ FVIIa перед добавлением титрования ADC к TF. Жизнеспособность клеток определяли с помощью CTG-анализа. Среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов были построены в Prism. Для каждого ADC  $IC_{50}$  рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

**[00799]** Жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF в отсутствие или в присутствии FVIIa показана на **Фиг. 21А** и **21В** соответственно. Регистрируемые значения  $IC_{50}$  ADC в отсутствие или в присутствии FVIIa приведенных на **Фиг. 21С**.

**[00800]** В то время как ADC, которые конкурировали с FVIIa (29E, 39A, 54E и TF-011), присутствие FVIIa отрицательно влияло по меньшей мере в 2,3 раза, ADC, которые не конкурировали с FVIIa (группа 25 и 43 антитела), были одинаково эффективны в отсутствие или в присутствии FVIIa.

**[00801]** Эти результаты показывают, что FVIIa не влияет на активность ADC к TF из групп 25 и 43.

#### **Пример 25: Анализы цитотоксичности на дополнительных линиях раковых клеток**

**[00802]** Для оценки числа копий TF на клеточной поверхности различных линий клеток собирали  $1,2 \times 10^5$  клеток и инкубировали с 133 нМ антитела 5G9 к TF человека на основной цепи IgG2a мыши в течение 2 часов на льду. После 2 промываний гранулы QIFIKIT (Agilent) и клетки, меченные антителом к TF, инкубировали в течение 30 мин на льду с 150 нМ козьего фикоэритрина (PE) козьего F(ab')<sub>2</sub>-фрагмента к IgG мыши, специфичного к фрагменту Fc-гамма (Jackson ImmunoResearch). После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter). После гейтирования отдельных живых клеток MFI определяли с помощью FlowJo (Flowjo, Ашленд, штат Орегон, США). Стандартная кривая с использованием гранул QIFIKIT была построена в Prism с использованием 5-параметрической модели связывания для определения количества копий. Нижний предел количественного определения составлял  $1,9 \times 10^3$  сайтов связывания антител (также называемый числом копий), а верхний предел количественного определения составлял  $8,0 \times 10^5$  сайтов связывания антител.

**[00803]** Количество копий TF на A431, CHO, HCT-116, HPAF-II, MDA-MB-231 и RF/6A показано на **Фиг. 22А**. Уровень поверхностного TF варьировал от  $1,9 \times 10^5$  до  $5,7 \times 10^5$  копий в клетках A431, MDA-MB-231 и HPAF-II. Клетки HCT-116 экспрессировали  $2,2 \times 10^4$  копий поверхностного TF, и экспрессия TF в клетках CHO была ниже предела количественного определения (BLOQ). Поскольку 5G9 перекрестно реагирует с TF *Macaca fascicularis*, а последовательность белка TF между *M. fascicularis* и *mulatta* идентична, также был оценен уровень поверхностного TF в клеточной линии RF/6A *M. mulatta* ( $1,7 \times 10^4$  копий).

**[00804]** Жизнеспособность клеток HCT-116, CHO, MDA-MB-231 и HPAF-II в присутствии титров ADC к TF ММАЕ была показана на **Фиг. 22В, 22С, 22D и 22Е** соответственно.

**[00805]** TF-специфические ADC эффективно снижают жизнеспособность линий раковых клеток MDA-MB-231 и HPAF-II (**Фиг. 22D и 22Е**). По сравнению с активностью в отношении клеток MDA-MB-231 и HPAF-II, ADC были менее эффективны в отношении клеток HCT-116, с некоторой активностью при самой высокой концентрации и не подлежащему регистрации значению  $IC_{50}$  (**Фиг. 22В**). TF-специфические ADC не влияли на жизнеспособность культур CHO (**Фиг. 22С**).

**[00806]** Эти результаты показывают, что цитотоксичность ADC к TF является специфической для TF-позитивных клеток.

**[00807]** При ранжировании эффективности ADC по уничтожению клеток в отношении клеток A431, HPAF-II и MDA-MB-231, четыре лучших ADC в порядке убывания представляли собой 39А, 29Е, 25G1 и 25А3 (**Таблица 46**). Когда клетки A431 инкубировали в течение 4 ч с TF-специфическими ADC с последующим промыванием, четыре верхних ADC в порядке убывания представляли собой 39А, 25G1, 25А3 и 29Е (**Таблица 47**). Таким образом, первые 2 ранга ADC, не влияющих на коагуляцию, представляли собой 25G1 и 25А3.

#### **Пример 26: Внутриклеточная сеть микротрубочек в присутствии конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)**

**[00808]** Иммунофлуоресценция внутриклеточной сети микротрубочек клеток была проведена для иллюстрации механизма действия ADC. См. Theunissen et al., *Methods Enzymol*, 2006, 409:251-284. Вкратце, клетки A431 или HPAF-II высевали на 8-луночные предметные стекла, обработанные поли-D-лизином (Corning Inc, Корнинг, штат Нью-Йорк, США). Через сутки культуральную среду заменяли средой, содержащей 5 нМ ADC. После двадцати часов воздействия ADC, клетки фиксировали в течение 15 минут при комнатной температуре 4 % параформальдегидом (ThermoFisher Scientific). После трех промываний PBS клетки пермеабелизировали в течение 1 часа с помощью PBS, содержащего 0,3 % Triton X-100 и 5 % нормальной козьей сыворотки. Затем сети микротрубочек окрашивали в течение 3 часов кроличьими mAb к тубулину (11H10) (конъюгат Alexa Fluor 488) (Cell Signaling Technology, Дэнверс, штат Массачусетс, США) в PBS, содержащем 1 % BSA и 0,3 % Triton X-100. После трех промываний к клеткам добавляли реагент ProLong Gold Antifade с DAPI (ThermoFisher Scientific), и предметное стекло помещали для микроскопии с использованием покровного стекла 0,17 мм. Получение изображений проводили на флуоресцентном микроскопе DMi8 (Leica Microsystems, Буффало Гроув, штат Иллинойс, США), оборудованном камерой sCMOS. Программное обеспечение Leica LAS X использовали для получения оптимизированного для системы Z-стека размером от 6 до 7 микрон. Четкое двухмерное изображение из этого Z-стека было создано автоматически с помощью функции изображения с расширенной глубиной резкости (EDF). Типичные

изображения окрашивания тубулина в клетках A431 или HPAF-II показаны на **Фиг. 23А и 23В** соответственно.

**[00809]** В то время как ADC изотипического контроля не влиял на сеть микротрубочек, ADC 25A3 эффективно разрушал сеть микротрубочек как в клетках A431, так и в клетках HPAF-II.

**[00810]** Эти результаты показывают, что ADC к TF на основе MMAE индуцируют цитотоксичность в TF-позитивных раковых клетках за счет разрушения внутриклеточной сети микротрубочек.

#### **Пример 27: Анализы цитотоксичности и блока G<sub>2</sub>/M в HUVEC**

**[00811]** Для оценки количества копий TF на клеточной поверхности эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) собирали  $1,2 \times 10^5$  HUVEC и инкубировали со 133 нМ антитела 5G9 к TF человека на основной цепи IgG2a мыши в течение 2 часов на льду. После 2 промываний гранулы QIFIKIT (Agilent) и клетки, меченные антителом к TF, инкубировали в течение 30 мин на льду с 150 нМ козьего фикоэритрина (PE) козьего F(ab')<sub>2</sub>-фрагмента к IgG мыши, специфичного к фрагменту Fc-гамма (Jackson ImmunoResearch). После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter). После гейтирования отдельных живых клеток MFI определяли с помощью FlowJo (Flowjo, Ашленд, штат Орегон, США). Стандартная кривая с использованием гранул QIFIKIT была построена в Prism с использованием 5-параметрической модели связывания для определения количества копий. Нижний предел количественного определения составлял  $1,9 \times 10^3$  сайтов связывания антител (также называемый числом копий), а верхний предел количественного определения составлял  $8,0 \times 10^5$  сайтов связывания антител.

**[00812]** В ответ на повреждение воспалительные и ангиогенные факторы временно увеличивают экспрессию поверхностного TF в сосудистой сети. См. Holy et al., *Adv Pharmacol*, 2010, 59:259-592, включенной в качестве ссылки во всей своей полноте. Временное повышение уровня TF в клеточной культуре имитировалось обработкой HUVEC комбинацией воспалительных цитокинов (5 нг/мл IL1-бета, 25 нг/мл TNF-альфа и 50 нг/мл VEGF). Как показано на **Фиг. 24А**, поверхностные уровни TF увеличивались с  $2,4 \times 10^3$  копий в отсутствие воспалительных цитокинов до  $1,2 \times 10^4$  копий после 6 ч обработки цитокинами. Поверхностный TF был примерно в 3 раза ниже после 20 часов обработки цитокинами по сравнению с 6 часами обработки, что указывает на то, что цитокин-индуцированная повышающая регуляция TF была временной.

**[00813]** Для анализа цитотоксичности ADC культуры HUVEC высевали в 96-луночные планшеты половинной площади. На следующие сутки к культурам добавляли комбинацию воспалительных цитокинов и титры ADC. Через четверо суток жизнеспособность культур оценивали путем лизиса в реагенте для анализа CellTiter-Glo (CTG). Как показано на **Фиг. 24В**, жизнеспособность клеток HUVEC, обработанных воспалительными цитокинами, не зависела от ADC к TF, 25A-vc-MMAE и 43Ea-vc-MMAE. Результаты показывают, что эндотелиальные клетки, обработанные воспалительными цитокинами, устойчивы к ADC к TF.

**[00814]** Для дальнейшего понимания устойчивости эндотелиальных клеток к ADC к TF, прогрессирование клеточного цикла оценивали через 24 часа после добавления цитокинов и ADC, специфических к TF. Блокирование в фазе G<sub>2</sub>/M клеточного цикла анализировали, как описано ранее в Theunissen et al, *Methods Enzymol*, 2006, 409:251-284. Вкратце, HUVEC с низким количеством пассажей (Lifeline Cell Technologies, Фредерик, штат Мэриленд, США), размноженные в эндотелиальной среде

VascuLife VEGF-Mv (Lifeline Cell Technologies), и клетки HCT-116 высевали в 12-луночные планшеты. На следующие сутки среду удаляли и заменяли свежей средой (без цитокинов) или средой, содержащей 5 нг/мл IL1-бета, 25 нг/мл TNF-альфа и 50 нг/мл VEGF (с цитокинами). К клеткам добавляли титры связанных с MMAE ADC или свободного MMAE. После 24 ч обработки клетки фиксировали в ледяном 70 % этаноле. Затем клетки промывали буфером для проточной цитометрии (PBS, 1 % FBS, 0,1 % тритона) и окрашивали в течение 1 часа фосфогистоном H3 (Ser10) в разведении 1:100 (конъюгат D2C8 PE, Cell Signaling Technology). После двух промываний клетки обрабатывали в течение 20 минут 100 мкг/мл рНКазы A PureLink (ThermoFisher Scientific) с последующим добавлением красителя жизнеспособности цодид TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific). 40000 трансформатов было собрано на проточном цитометре Novocyte. В программе анализа данных Flowjo были исключены дублеты клеток и анеуплоидные клетки. Сигнал рН3 был нанесен на график в зависимости от содержания ДНК для определения процентного содержания рН3-позитивных клеток.

**[00815]** Процент рН3-позитивных клеток (% рН3) с титром ADC к TF на HUVEC в отсутствие или в присутствии воспалительных цитокинов показан на **Фиг. 25А и 25В** соответственно. Процент рН3-позитивных клеток (% рН3) с титром ADC к TF на клетках HCT-116 показан на **Фиг. 25С**.

**[00816]** В то время как TF-специфические ADC вызывали блокировку в фазе G<sub>2</sub>/M клеточного цикла в клетках HCT-116, ADC не влияли на прогрессирование клеточного цикла в HUVEC с обработкой воспалительными цитокинами или без нее. Как показано на **Фиг. 26А и 26В**, процент рН3-позитивных клеток HCT-116 увеличился в 5 раз после обработки 25А-vc-MMAE по сравнению с обработкой изотипическим-vc-MMAE.

**[00817]** На **Фиг. 27А и 27В** показано, что неконъюгированный MMAE увеличивает фосфорилирование гистона H3 в одинаковой степени как в клетках HCT-116, так и в HUVEC, что указывает на то, что резистентность эндотелиальных клеток является специфической для ADC на основе MMAE.

**[00818]** Взятые вместе, эти результаты демонстрируют, что ADC к TF не влияют на жизнеспособность HUVEC в отсутствие или в присутствии воспалительных цитокинов.

#### **Пример 28: Анализ фосфорилирования Erk**

**[00819]** Для оценки фосфорилирования Erk клетки A431 высевали в 6-луночные планшеты (Corning) в среде на одну ночь. На следующие сутки клетки промывали один раз и лишали сыворотки путем добавления бессывороточной среды. После голодания клетки предварительно инкубировали со 100 нМ антител к TF в течение 30 минут при 37 °С. FVIIa вносили в лунки при концентрации 50 нМ и инкубировали в течение 20 минут при 37 °С для индукции p-ERK. После индукции клетки лизировали с помощью буфера для лизиса RIPA и экстракции с коктейлем протеазы Halt™ и ингибитора фосфатазы (ThermoFisher Scientific). Вестерн-блоттинг проводился с 20 мкг клеточного лизата с использованием Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) и p44 / 42 MAPK (Erk1 / 2) (137F5) (Cell Signaling Technology) в качестве первичных антител и пероксидазный аффинно чистый ослиный анти-кроличий IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch) в качестве вторичного антитела. Интенсивности ненасыщающих полос для pErk и Erk измеряли на Amersham AI600 (GE Healthcare). Каждую интенсивность pErk нормализовали относительно ее соответствующей интенсивности Erk и интенсивности образца без антител и по-FVIIa.

**[00820]** Результаты вестерн-блоттинга pErk и Erk показаны на **Фиг. 28**. Обработка FVIIa индуцировала фосфорилирование Erk в 5,2 раза в культурах клеток без предварительной обработки антителами к TF. Индуцирование фосфорилирования Erk было устранено предварительной обработкой 1F, 39A и 54E (кратная индукция от 0,8 до 1,2) и ослаблено 29E и членами групп 25 и 43 (кратная индукция от 2,0 до 3,4).

**[00821]** Эти данные указывают на то, что антитела к TF ингибируют FVIIa-зависимую передачу сигналов TF при оценке фосфорилирования Erk.

#### **Пример 29: Анализ антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ).**

**[00822]** Для оценки активности АЗКЦ использовали основной набор АЗКЦ Reporter Bioassay Core Kit (Promega) в соответствии с протоколом производителя. Вкратце, клетки A431 высевали на микротитровальный планшет (Corning). На следующие сутки клетки инкубировали с титрованием по десяти точкам 1:3 антитело или ADC к TF, начиная с 50 нМ. В каждую лунку добавляли соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней АЗКЦ 8:1 и инкубировали в течение 6 часов при 37 °С. Реагент для анализа люциферазы Bio-Glo™ добавляли в каждую лунку для измерения люминесценции на планшет-ридере Envision (PerkinElmer, Уолтем, штат Массачусетс, США). Среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов были построены в Prism. Для каждого антитела и ADC EC<sub>50</sub> и связанный с ней 95 % доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

**[00823]** Люминесценция репортера АЗКЦ после инкубации с репортерной линией клеток Jurkat при титровании антителом к TF или ADC к TF показана на **Фиг. 29А и 29В** соответственно. Значения EC<sub>50</sub> репортерной люминесценции АЗКЦ для каждого антитела к TF или ADC представлены на **Фиг. 29С**.

**[00824]** Все протестированные TF-специфические антитела и ADC вызывали люциферазозависимую люминесценцию со значениями EC<sub>50</sub> в диапазоне от 0,18 до 0,43 нМ.

**[00825]** Эти данные показывают, что как TF-специфические антитела, так и ADC могут индуцировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) через домен Fc IgG1 антитела.

#### **Пример 30: Исследования на моделях ксенотрансплантатов, полученных из клеточной линии (CDX)**

**[00826]** Для оценки эффективности ADC *in vivo* были проведены исследования ксенотрансплантатов на мышцах с ослабленным иммунитетом, как описано в Kim et al., *Blood Cancer J*, 2015, 5: e316, которая полностью включена посредством ссылки. Вкратце, TF-позитивную эпидермоидную карциному A431 и клеточные линии карциномы поджелудочной железы HPAF-II имплантировали подкожно в бок бестимусным голым мышам (Charles River Laboratories, Уилмингтон, штат Массачусетс). Животные были рандомизированы и обработаны, как показано на фигурах. Оценку массы тела и размера опухоли проводили каждые две недели. Животных удаляли из исследования и умерщвляли, когда размер опухоли достигал 1200 мм<sup>3</sup> или становилось очевидным изъязвление кожи. Кроме того, кривая MTV для рассматриваемой группы лечения больше не отображалась после того, как животное было исключено из исследования из-за размера. Уход за животными соответствовал установленным правилам. Средний объем опухоли (MTV) со стандартной ошибкой среднего (SEM) был нанесен на график с течением времени. Эффективность лечения определяли путем расчета ингибирования роста опухоли (% TGI = 100 % x [1 - (конечное MTV – начальное MTV леченой группы)/(конечное MTV - начальное MTV контрольной группы)]) перед любым из животных в группе плацебо были усыплены из-за размера опухоли ≥ 1200 мм<sup>3</sup>. Статистические сравнения MTV

проводились с использованием одностороннего дисперсионного анализа с последующим тестом множественных сравнений Тьюки, сравнивающим все группы. *P*-значения приводятся для каждого ADC по сравнению с группой плацебо. В конце исследования эффективность также определялась в каждой группе лечения путем подсчета количества животных с частичной регрессией (ЧР) или полная регрессия (ПР) опухоли. В ответе ЧР объема опухоли составляла 50 % или менее от ее объема в 1 сутки для 3 последовательных измерений в ходе исследования и равнялся или превышал 14 мм<sup>3</sup> для 1 или более из этих измерений. В ответе ПР объем опухоли составлял менее 14 мм<sup>3</sup> для 3 последовательных измерений. Когда в конце исследования у животного проявлялась реакция ПР, его классифицировали как выжившего без опухоли (ВБО) вместо ПР. На протяжении всех исследований ADC не наблюдалось значительных изменений массы тела из-за лечения ADC.

**[00827]** Как показано на **Фиг. 30А**, мышей с опухолью НРАФ-II лечили 5 мг/кг ADC на 1, 8 и 15 сутки после рандомизации. Эффект TF-011 ADC сравнивали с двумя репрезентативными клонами из двух групп, которые не влияли на коагуляцию (т.е. 25А и 43Еа). Через двадцать одни сутки после рандомизации эффективность ADC 25А, 43Еа и TF-011 была эквивалентной, с ингибированием роста опухоли в диапазоне от 131 до 136 %.

**[00828]** Во втором исследовании НРАФ-II, как показано на **Фиг. 30В**, антитело с самой высокой аффинностью, которое влияло на коагуляцию (т.е. 39А), и шесть антител с различной аффинностью из групп 25 и 43 (то есть 25А, 25А3, 25G1, 43Еа, 43В1 и 43D7) были одинаково эффективны при двукратной дозировке 2 мг/кг. Ингибирование роста опухоли для TF-специфических ADC составляло от 129 до 139 % на 21 сутки, и от 6 до 9 из 10 животных на группу лечения были классифицированы как выжившие без опухолей в конце исследования.

**[00829]** В модели ксенотрансплантата MDA-MB-231 ADC вводили на 1-е и 8-е сутки после рандомизации в дозе 4 или 2 мг/кг. Как показано на **Фиг. 31А**, все TF-специфические ADC были активны при 4 мг/кг, с ингибированием роста опухоли в диапазоне от 69 до 100 %, и значительная разница в среднем объеме опухоли для каждого TF-специфического ADC по сравнению с контрольной группой плацебо. Хотя заметная разница наблюдалась в среднем объеме опухоли между 25G1 и другими TF-специфическими ADC, она не была статистически значимой ( $P > 0,05$ ).

**[00830]** При 2 мг/кг ADC, как показано на **Фиг. 31В**, все TF-специфические антитела проявляли субоптимальную активность с различной степенью значимости в среднем объеме опухоли по сравнению с контрольной группой плацебо 25А3, 39А и 43В1 показали наибольшую степень значимости среднего объема опухоли по сравнению с контрольной группой плацебо ( $P < 1 \times 10^{-4}$ ). Разница в среднем объеме опухоли между 39А и другими антителами была значимой только для сравнения между 39А и 43Еа ( $P < 0,05$ ).

**[00831]** Напротив, неконъюгированные антитела 25А, 25А3 и 43Еа не обладали значительной противораковой активностью при двукратном введении в дозе 10 мг/кг в модели ксенотрансплантата НРАФ-II (**Фиг. 32**).

**[00832]** Полученные результаты демонстрируют, что TF-специфические ADC эффективны в модели ксенотрансплантата НРАФ-II и MDA-MB-231 при различных режимах дозирования. Активность ADC обусловлена доставкой токсина антителами к TF.

### Пример 31: Исследования в моделях ксенотрансплантата, полученного от пациента (PDX)

**[00833]** TF-позитивные модели PDX создавали на бестимусных голых мышах (Envigo, Индианаполис, штат Индиана) для оценки эффективности ADC *in vivo*. Уход за животными соответствовал установленным правилам. Подопытным животным односторонне имплантировали в левый бок фрагменты опухоли.

**[00834]** Для иммуногистохимического (ИХС) анализа ткани подвергали предварительной обработке с использованием Rip Tide (Mosaic Laboratories, Лейк-Форест, штат Калифорния) в течение 40 минут при 95-97 °C на водяной бане, охлаждали в течение 10 минут на стенде, 3 раза промывали дистиллированной водой и промывали в течение 5 минут буфером Splash-T (Mosaic Laboratories). Срезы тканей блокировали реагентом для блокировки пероксидазы EnVision (EnVision + Mouse HRP Detection Kit, Agilent, Карпинтерия, штат Калифорния) в течение 5 минут с последующими двумя промываниями в буфере Splash-T по 5 минут каждое. Затем срезы ткани окрашивали антителом к TF (мышинный клон HTF-1) или реагентом отрицательного контроля мыши в течение 30 минут с последующими двумя промываниями в буфере Splash-T по 5 минут каждое. Вторую стадию окрашивания срезов ткани проводили в течение 30 минут с помощью EnVision + HRP мыши (EnVision + Mouse HRP Detection Kit) с последующими двумя промываниями в буфере Splash-T по 5 минут каждое. Для визуализации окрашивания антител к TF, срезы тканей проявляли с помощью хромогена DAB (EnVision + Mouse HRP Detection Kit) в течение 5 минут, с последующими 10 погружениями и 5-минутным промыванием в дистиллированной воде. Срезы тканей контрастировали гематоксилином в течение 5 мин с последующими 3 полосканиями в дистиллированной воде.

**[00835]** Животные были рандомизированы и обработаны, как показано на фигурах. Животных удаляли из исследования и умерщвляли, когда размер опухоли достигал 1200 мм<sup>3</sup> или становилось очевидным изъязвление кожи. Кроме того, кривая MTV для рассматриваемой группы лечения больше не отображалась после того, как животное было исключено из исследования из-за размера. TGI и статистический анализ проводили таким же образом, как и для исследований CDX. Определения ответов ПР и ЧР для исследований PDX были следующими: у респондента с ЧР MTV  $\leq 30\%$  от MTV на 1 сутки для 2 последовательных измерений; у респондента с ПР был неопределяемый MTV для 2 последовательных измерений. Когда в конце исследования у животного проявлялась реакция ПР, его классифицировали как ВБО вместо ПР.

**[00836]** В то время как плоскоклеточный рак головы и шеи (SCCHN) и аденокарцинома яичников PDX имели Н-баллы 250 и 220, соответственно, PDX аденокарциномы желудка имел Н-балл 155 (данные не показаны). После рандомизации мышей, несущих опухоль, лечение проводилось еженедельно либо дважды, либо трижды с дозой от 2,5 до 5 мг/кг. Как показано на **Фиг. 33А, 33В и 33С**, во всех моделях PDX наблюдалось значительное уменьшение среднего объема опухоли для каждого TF-специфического ADC по сравнению с группой изотипического контроля ( $P < 1 \times 10^{-4}$ ), без существенной разницы между различными TF-специфическими ADC ( $P > 0,05$ ). В модели PDX головы, шеи и яичников число полностью ответивших и выживших без опухолей не превышало 2 из 10 животных в конце исследования в любой из групп лечения (**Фиг. 33А и 33В**). Однако в желудочном PDX в группе лечения 25А было 2 частично ответивших, 2 полностью ответивших и 3 выживших без опухоли, а группа TF-011 содержала 1 полностью ответившего и 5 выживших без опухолей в конце исследования (**Фиг. 33С**).

**[00837]** Эти данные демонстрируют, что ADC к TF из групп 25 и 43 (т.е. 25А и 43Еа) были столь же эффективны, как ADC тизотумаб ведотина (TF-011).

### Пример 32: Исследование эффективности на модели CNV свиней

**[00838]** Было проведено исследование эффективности на модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV), чтобы определить влияние 4 различных антител к TF на уменьшение размера поражения.

**[00839]** Животным в возрасте 10-12 недель (свиньи/Гэмпшир кросс) подвергали двустороннему воздействию лазером с использованием диодного лазера 810 нм, доставляемого через непрямой офтальмоскоп, чтобы создать приблизительно 6 одиночных лазерных пятен между венами сетчатки в каждом глазу каждого животного. Для оценки эффективности 2 мг каждого антитела к TF, 25G9, 43D8, 1G и 29D, соответственно, вводили интравитреально на 7 сутки после лазерной обработки. В исследование также была включена контрольная группа плацебо. Флуоресцентную ангиографию (ФА) для определения общей флуоресценции поражения выполняли на 7 сутки (исходный уровень), 14 сутки и 28 суток. ФА оценивали с использованием измерения скорректированной общей флуоресценции поражения (CTLF) для каждого отдельного поражения. Был отслежен периметр поражения и получено интегрированное значение плотности. Затем рассчитывали CTLF путем вычитания среднего фона флуоресценции рядом с поражением из интегрированного измерения плотности. Процентное изменение размера поражения с 7 по 14 сутки и с 7 по 28 сутки показано на **Фиг. 34А** и **Фиг. 34В**, соответственно.

**[00840]** С 7 по 14 сутки антитела к hTF из групп 25 и 43, 25G9 и 43D8 уменьшали размер поражения более чем на 20 %. С 7 по 28 сутки антитело к hTF 25G9 уменьшало размер поражения более чем на 40 %. Антитела к hTF 1G и 29D существенно не уменьшали размер поражения по сравнению с контрольной группой плацебо.

**[00841]** Эти данные демонстрируют, что антитела из групп 25 и 43, 25G9 и 43D8 были эффективны в уменьшении размера поражения в модели CNV свиней.

### Пример 33: Эффективность 25G9 в модели CNV свиней

**[00842]** Было проведено исследование эффективности на модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV) для сравнения различных доз антитела 25G9 к TF по их способности уменьшать размер поражения.

**[00843]** Животным в возрасте 10-12 недель (свиньи/Гэмпшир кросс) подвергали двустороннему воздействию лазером с использованием диодного лазера 810 нм, доставляемого через непрямой офтальмоскоп, чтобы создать приблизительно 6 одиночных лазерных пятен между венами сетчатки в каждом глазу каждого животного. Для оценки эффективности 600 мкг, 2 мг и 4 мг антитела к TF 25G9 вводили интравитреально на 7 сутки после лазерной обработки. Флуоресцентную ангиографию (ФА) для определения общей флуоресценции поражения выполняли на 7 сутки (исходный уровень) и 28 суток. ФА оценивали с использованием измерения скорректированной общей флуоресценции поражения (CTLF) для каждого отдельного поражения. Был отслежен периметр поражения и получено интегрированное значение плотности. Затем рассчитывали CTLF путем вычитания среднего фона флуоресценции рядом с поражением из интегрированного измерения плотности. Процентные изменения размера поражения с 7 по 28 сутки показаны на **Фиг. 35**.

**[00844]** С 7 по 28 сутки антитела к hTF 25G9 уменьшали размер поражения в зависимости от дозы. 25G9 уменьшил размер поражения более чем на 50 % при 4 мг. Эти данные демонстрируют, что антитело 25G9 было эффективным в уменьшении размера поражения в модели CNV свиней в зависимости от дозы.

### **Пример 34: Анализ аффинности связывания с TF свињи и TF кролика**

**[00845]** Проверяли способность некоторых антител связывать TF свињи. Для измерений TF свињи на основе Biacore, данное антитело к TF было захвачено антителом к IgG человека, ковалентно связанным с чипом CM5 (GE Healthcare Bio-Sciences). Связь между антителами к TF и TF свињи осуществляли трехкратным титрованием TF-His свињи, начиная с 100 нМ, измеряли в течение 180-240 секунд. Затем измеряли диссоциацию между антителом к TF и TF-His в течение 1800 секунд. Кинетические данные были проанализированы и сглажены в глобальном масштабе с использованием модели связывания 1:1. Значения  $K_D$  указанных антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Biacore, показаны в **Таблице 48**.

**[00846]** Проверяли способность некоторых антител связывать TF кролика. Для измерений TF кролика на основе Biacore, данное антитело к TF было захвачено антителом к IgG человека, ковалентно связанным с чипом CM5 (GE Healthcare Bio-Sciences). Связь между антителами к TF и TF кролика осуществляли трехкратным титрованием TF-His кролика, начиная с 100 нМ, измеряли в течение 180-240 секунд. Затем измеряли диссоциацию между антителом к TF и TF-His в течение 1800 секунд. Кинетические данные были проанализированы и сглажены в глобальном масштабе с использованием модели связывания 1:1. Значения  $K_D$  указанных антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Biacore, показаны в **Таблице 48**.

**[00847]** Как показано в **Таблице 48**, антитела к hTF из групп 25 и 43 проявляют связывающую активность и перекрестную реактивность с TF свињи и TF кролика. Напротив, антитела из групп 1 и 29 не проявляют активности связывания с TF свињи или TF кролика.

**Таблица 48:** Кинетика антител в отношении TF свињи и TF кролика

Антитело	$K_D$ свињи, нМ	$K_D$ кролика, нМ
1G	без связывания	без связывания
25A	18,7	50,5
25A3	5,5	12,4
25A5	5,2	5,4
25A5-T	4,5	5,4
25G	26,0	75,5
25G1	2,6	3,6
25G9	3,3	4,2
29D	без связывания	без связывания
43D7	8,8	6,8
43D8	19,2	7,7

без связывания\*: от полного отсутствия связывания до слабого связывания, без сообщаемой  $K_D$

### **Пример 35: Иммуногистохимический (ИНС) анализ.**

**[00848]** Ткани подвергали предварительной обработке с использованием Rip Tide (Mosaic Laboratories, Лейк-Форест, штат Калифорния) в течение 40 минут при 95-97 °C на водяной бане, охлаждали в течение 10 минут на стенде, 3 раза промывали дистиллированной водой и промывали в течение 5 минут буфером Splash-T (Mosaic Laboratories). Срезы тканей блокировали реагентом для блокировки пероксидазы EnVision (EnVision + Mouse HRP Detection Kit, Agilent, Карпинтерия, штат Калифорния) в течение 5 минут с последующими двумя промываниями в буфере Splash-T по 5 минут каждое. Срезы тканей затем окрашивали

антителом к TF (мышинный клон НTF-1) или реагентом отрицательного контроля мыши в течение 30 минут с последующими двумя промываниями в буфере Splash-T по 5 минут каждое. Вторую стадию окрашивания срезов ткани проводили в течение 30 минут с помощью EnVision + HRP мыши (EnVision + Mouse HRP Detection Kit) с последующими двумя промываниями в буфере Splash-T по 5 минут каждое. Для визуализации окрашивания антител к TF, срезы тканей проявляли с помощью хромогена DAB (EnVision + Mouse HRP Detection Kit) в течение 5 минут, с последующими 10 погружениями и 5-минутным промыванием в дистиллированной воде. Срезы тканей контрастировали гематоксилином в течение 5 мин с последующими 3 полосканиями в дистиллированной воде.

**[00849]** Интенсивность окрашивания оценивалась по полуколичественной целочисленной шкале от 0 (отрицательный результат) до 3 (или «3+») сертифицированным патологом-анатомом. Регистрировали процент клеток, окрашивающихся позитивно на каждом уровне интенсивности. Оценка была основана на локализации TF на клеточной мембране. Оценка H объединяет компоненты интенсивности окрашивания с процентом позитивных клеток. Она имеет значение от 0 до 300 и определяется как:  $1 \times (\text{процент клеток, окрашиваемых при интенсивности 1+}) + 2 \times (\text{процент клеток, окрашиваемых при интенсивности 2+}) + 3 \times (\text{процент клеток, окрашиваемых при интенсивности 3+}) = \text{оценка H}$ .

**[00850]** Были окрашены срезы тканей пациентов с раком почек, раком головы и шеи, раком яичников, раком желудка, раком простаты, раком гастроэзофагеального перехода, раком шейки матки и глиобластомой. Количество пациентов с оценками в пределах каждого диапазона оценок H и общее количество пациентов для каждого рака показано в **Таблице 50**. Эти результаты демонстрируют, что TF экспрессируется при раке почки, раке головы и шеи, раке яичников, раке желудка, раке простаты, раке гастроэзофагеального перехода, раке шейки матки и глиобластоме.

**Таблица 50:** Результаты анализа ИHC

Обозначение	Оценка H 0	Оценка H 1-100	Оценка H 101-200	Оценка H 201-300
Почка	19/28	6/28	1/28	2/28
Голова и шея	4/74	31/74	19/74	20/74
Яичник	13/26	11/26	0/26	2/26
Желудок	1/20	9/20	4/20	6/20
Предстательная железа	1/24	8/24	7/24	8/24
Поджелудочная железа	14/37	18/37	5/37	0/37
Гастроэзофагеальный переход	28/59	23/59	6/59	2/59
Шейка матки	31/60	21/60	7/60	1/60
Глиобластома	2/41	7/41	23/41	9/41

**Пример 36: Связывание эпитопа антителами к TF**

**[00851]** Чтобы установить различия в связывании эпитопа между антителами к TF человека, были проведены эксперименты по картированию химерных конструкций TF. Этот метод картирования позволяет различать эпитопы антител.

**[00852]** Поскольку все оцениваемые антитела к TF человека не связывают TF крысы, последовательность TF крысы использовали для конструирования химерных конструкций TF человека-крысы. Дизайн химерной конструкции человек-крыса направлялся N- и C-концевым доменом внеклеточного домена TF (аминокислоты 1-107 и 108-219 внеклеточного домена, соответственно) с выравниванием, показанным на **Фиг. 36**. На основании результатов картирования химеры с использованием конструкций из **Фиг. 36** аминокислотный сегмент 141-194 крысы был заменен последовательностью человека (аминокислоты 136-189 внеклеточного домена hTF) с выравниванием, показанным на **Фиг. 37**. Дизайн трех конструкций человека TF с 1 или 2 заменами человек-крыса (hTF\_K68N, hTF\_K149N и hTF\_N171H\_T197K) был основан на сообщенных контактных остатках K68, K149 и N171 и T197 для антитела 10H10 (Terpyakov et al., *Cell Signal.*, 2017, 36:139-144), с выравниванием, показанным на **Фиг. 38**.

**[00853]** Чтобы установить связывание антител к TF человека с различными конструкциями TF, клетки HEK293 трансфицировали плазмидой ДНК, коэкспрессирующей конструкцию TF и зеленый флуоресцентный белковый маркер. Для подгруппы антител титр антител (серия разведений по 12 точкам 1:3, начиная с 250 нМ) оценивали на выбранных конструкциях TF (**Фиг. 39А-Ф**). Эти титры антител продемонстрировали, что концентрация антител 15 мкг/мл (100 нМ), используемая в **Таблицах 51 и 52** были подходящим для установления «процента связывания антител с конструкцией TF относительно hTF». Через двое суток после трансфекции клетки собирали с планшета для тканевых культур, окрашивали 15 мкг/мл указанного антитела к TF, промывали, окрашивали поликлональным антителом Alexa Fluor 647 к IgG-Fc человека, промывали и окрашивали красителем жизнеспособности 4',6-диамидино-2-фенилиндола, дигидрохлоридом. После сбора 80000 живых трансформантов на проточном цитометре живые клетки, помеченные флуоресцентным маркером, анализировали на степень окрашивания антителом к TF. Медианные значения интенсивности флуоресценции относительно изотипического контроля для каждой конструкции экспрессии TF были разделены на среднее значение интенсивности флуоресценции относительно изотипического контроля для конструкции экспрессии hTF, и полученный процент указан как «Процент связывания антитела с конструкцией TF относительно hTF» в **Таблицах 51 и 52**. Используемый в данном документе термин «анализ окрашивания живых клеток» относится к анализу связывания антител, используемому в данном примере.

**[00854]** Предположение, что все химерные конструкции TF экспрессировались на поверхности клетки на уровнях от 50 % до 150 % контрольной конструкции hTF, было принято для всех конструкций TF по меньшей мере для одного антитела к TF человека в коллекции антител, за исключением конструкции h1-107\_r (аминокислотный сегмент 1-107 человека заменен последовательностью крысы). Ожидается отсутствие связывания антител к TF человека с TF крысы, экспрессируемым на клеточной поверхности. Когда «процент связывания антитела с конструкцией TF относительно hTF» в **Таблицах 51 и 52** составлял менее 50 %, антитело считалось несвязывающим (0) в **Таблицах 53 и 54**. Когда «процент связывания антитела с конструкцией TF относительно hTF» в **Таблицах 51 и 52** составлял от 50 % до 150 %, антитело считалось несвязывающим (1) в **Таблицах 53 и 54**.

**[00855]** Каждое антитело было отнесено к группе эпитопа в **Таблице 55** на основании комбинации несвязанных конструкций из **Таблицы 53**. Антитела из группы 25 (25A, 25A3, 25A5-T, 25G1 и 25G9) связывают уникальный эпитоп, обозначенный как «эпитоп группы 6» в **Таблице 55**. Антитела из группы 43 (43B1, 43D7, 43D8 и 43Ea) также связывают уникальный эпитоп, обозначенный как «эпитоп группы 7» в **Таблице 55**. Антитело из группы 29 (29E) связывают уникальный эпитоп, обозначенный как «эпитоп

группы 2» в Таблице 55. Антитела из групп 39 и 54 (39А и 54Е) связывают уникальный эпитоп, обозначенный как «эпитоп группы 3» в Таблице 55.

**[00856]** Антитела групп 25 и 43 являются единственными антителами в панели антител, которые связывают r141-194\_h, химерную конструкцию, в которой аминокислоты 141–194 крысы заменены последовательностью человека (Фиг. 39F; Таблица 54). Кроме того, хотя M1593 не может связывать hTF\_K68N, все другие антитела в панели антител связывают hTF\_K68N (Фиг. 39С; Таблица 54). Только антитела групп 25 и 43 не могут связывать hTF\_K149N (Фиг. 39D; Таблица 54). Только антитела группы 25 не могут связывать hTF\_N171H\_T197K (Фиг. 39Е; Таблица 54).

**[00857]** Таким образом, эти результаты демонстрируют, что антитела группы 25 связывают уникальный эпитоп на TF человека по сравнению со всеми другими протестированными антителами. Антитела группы 43 связывают уникальный эпитоп на TF человека по сравнению со всеми другими протестированными антителами. Антитела группы 25 и группы 43 связывают другой эпитоп на TF человека из M1593.

**Таблица 51:** Процент связывания антител с конструкцией TF относительно hTF

	Конструкция	Антитело															
		1F	29E	39A	54E	TF-011	5G9	M1593	25A	25A3	25A5-T	25G1	25G9	43B1	43D7	43D8	43Ea
	hTF	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	rTF	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Аминокислотный сегмент человека заменен сегментом крысы (в скобках: количество аминокислотных изменений относительно TF человека)	h1-107_r (52)	0	0	0	0	0	41	0	32	36	36	37	28	33	35	31	37
	h1-77_r (25)	0	0	0	0	0	94	0	86	95	84	88	64	64	75	69	69
	h1-38_r (14)	91	87	100	102	104	100	104	101	104	93	101	88	97	106	104	103
	h39-77_r (11)	0	0	0	0	0	88	2	82	88	80	87	71	59	75	71	69
	h78-107_r (21)	0	8	81	68	32	114	74	108	116	103	113	108	113	114	117	114
	h78-107_r.v2 (27)	0	0	76	62	23	101	59	95	96	91	94	93	97	100	101	101
	h78-93_r (18)	102	0	77	91	110	102	104	106	105	92	101	98	101	104	102	103
	h94-107_r (9)	1	82	85	89	27	91	46	82	86	78	83	77	84	92	89	91
	h108-219_r (46)	119	118	118	122	128	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	h108-158_r (19)	98	101	107	108	108	63	4	1	0	0	11	22	0	1	0	0
	h108-132_r (10)	105	108	109	107	124	125	124	112	112	106	111	118	122	126	122	124

<b>h133-158_r</b> (9)	113	122	119	130	134	91	0	0	0	0	2	3	0	4	1	0
<b>h133-145_r</b> (4)	84	95	96	104	104	108	100	77	80	80	87	100	99	104	103	106
<b>h133-139_r</b> (2)	82	90	95	103	102	104	103	88	89	88	91	86	94	101	97	101
<b>h140-145_r</b> (2)	89	100	101	110	109	113	97	80	87	86	89	105	101	104	104	109
<b>h146-158_r</b> (5)	115	122	125	134	134	91	133	2	17	18	17	0	3	20	10	0
<b>h146-151_r</b> (1)	122	133	139	142	143	141	118	3	14	17	7	0	11	39	23	2
<b>h152-158_r</b> (4)	110	121	128	127	136	82	132	110	116	112	116	111	119	134	129	134
<b>h159-219_r</b> (27)	132	134	141	142	155	0	137	0	0	0	0	0	132	130	130	76
<b>h159-189_r</b> (11)	94	101	104	110	112	0	105	0	0	0	0	0	100	106	104	94
<b>h159-174_r</b> (6)	96	98	101	118	120	0	98	0	0	0	0	0	103	115	112	101
<b>h159-166_r</b> (3)	89	93	96	100	98	104	100	93	95	87	91	88	99	106	105	110
<b>h167-174_r</b> (3)	96	112	96	122	128	0	118	0	0	0	0	0	109	121	112	104
<b>h175-189_r</b> (5)	97	113	112	118	123	119	114	86	95	99	100	86	109	118	114	122
<b>h190-219_r</b> (16)	111	138	149	141	145	12	143	125	124	119	127	144	133	140	136	147

Таблица 52: Процент связывания антител с конструкцией TF относительно hTF

Конструкции	Антителю															
	1F	29E	39A	54E	TF-011	5G9	M1593	25A	25A3	25A5-T	25G1	25G9	43B1	43D7	43D8	43Ea
<b>hTF</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>rTF</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>r141-194_h*</b>	0	0	0	0	0	32	0	65	89	88	83	108	90	102	95	81

hTF_K68N	10 5	115	119	118	111	132	0	93	124	126	115	103	107	116	119	118
hTF_K149N	11 5	117	131	127	132	145	111	2	12	13	7	0	10	29	20	1
hTF_N171H_T197 K	83	98	94	89	109	102	113	1	4	7	1	0	98	101	103	118

\*аминокислотный сегмент крысы заменен сегментом человека, что приводит к замене 20 аминокислот

Таблица 53: Связывание антител с конструкцией TF

	Конструкция	Антитело															
		1F	29E	39A	54E	TF-011	5G9	M1593	25A	25A3	25A5-T	25G1	25G9	43B1	43D7	43D8	43Ea
	hTF	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	rTF	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Аминокислотный сегмент человека заменен сегментом крысы (в скобках: количество аминокислотных изменений относительно TF человека)	h1-107_r (52)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	h1-77_r (25)	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h1-38_r (14)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h39-77_r (11)	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h78-107_r (21)	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h78-107_r.v2 (27)	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h78-93_r (18)	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h94-107_r (9)	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h108-219_r (46)	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	h108-158_r (19)	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	h108-132_r (10)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h133-158_r (9)	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	h133-145_r (4)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h133-139_r (2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h140-145_r (2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	h146-158_r (5)	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	h146-151_r (1)	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	h152-158_r (4)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
h159-219_r (27)	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	
h159-189_r (11)	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	

<b>h159-174_r (6)</b>	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1
<b>h159-166_r (3)</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>h167-174_r (3)</b>	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1
<b>h175-189_r (5)</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>h190-219_r (16)</b>	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

**Таблица 54:** Связывание антител с конструкцией TF

Конструкции	Антитело															
	1F	29E	39A	54E	TF-011	5G9	M1593	25A3	25A5-T	25G1	25G9	43B1	43D7	43D8	43Ea	
<b>hTF</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<b>rTF</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>r141-194_h*</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	
<b>hTF_K68N</b>	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	
<b>hTF_K149N</b>	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>hTF_N171H_T197K</b>	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	

\*аминокислотный сегмент крысы заменен сегментом человека, что приводит к замене 20 аминокислот

**Таблица 55:** Назначение групп эпитопа на основе несвязанных химерных конструкций

Антитело	Конструкции, не связанные антителами	Группа эпитопа
<b>1F</b>	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r, h78-107_r, h78-107_r.v2, h94-107_r	1
<b>29E</b>	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r, h78-107_r, h78-107_r.v2, h78-93_r	2
<b>39A</b>	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r	3
<b>54E</b>	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r	3
<b>TF-011</b>	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r, h78-107_r, h78-107_r.v2, h94-107_r	1
<b>5G9</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r, h190-219_r	4
<b>M1593</b>	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r, h94-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r	5
<b>25A</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6

<b>25A3</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6
<b>25A5-T</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6
<b>25G1</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6
<b>25G9</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6
<b>43B1</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r	7
<b>43D7</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r	7
<b>43D8</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r	7
<b>43Ea</b>	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r	7

**[00858]** Хотя изобретение было конкретно показано и описано со ссылкой на предпочтительный вариант осуществления и различные альтернативные варианты осуществления, специалистам в соответствующей области техники будет понятно, что в него могут быть внесены различные изменения в форме и деталях, не выходя за рамки сущности и объема изобретения.

**[00859]** Все ссылки, выданные патенты и заявки на патенты, цитируемые в тексте данного описания, включены в данный документ посредством ссылки во полном объеме для всех целей.

## ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Таблица 13: Последовательности варибельной области

Клон	Домены VH (SEQ ID NO)	Домены VL (SEQ ID NO)
1F	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DYAMGWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGLT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKAPYGYMDVWGKGTTV TVSS (SEQ ID NO:37)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPS RFGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQY KSYITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:38)
1G	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMAWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGLT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKAPYGYMDVWGKGTTV TVSS (SEQ ID NO:75)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPS RFGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQY KSYITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:76)
25A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF DVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPIYNGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPS RFGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQF QSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:114)

Клон	Домены VH (SEQ ID NO)	Домены VL (SEQ ID NO)
	RSDDTAVYYCARDAGTYSPPFGYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:113)	
25A3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF DVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDAGTYSPPFGYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:151)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINN WLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYNLESGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQLF QSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:152)
25A5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF DVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDAGTYSPPFGYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:189)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISN WLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSLEYGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQF QKLPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:190)
25A5- T	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF DAYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDAGTYSPPFGYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:836)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISN WLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSLEYGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQF QKLPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:837)
25G	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF RSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAPYNG NTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRS LRSDDTAVYYCARDAGTYSPPYGYGMDVW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO:227)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQF QSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:228)
25G1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF RSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAPYSGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDAGTYSPPYGYGMDVW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO:265)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASHSIDS WLAWYQQKPGKAPKLLIYKASYLESGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQLF QSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:266)
25G9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF RSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAPYSGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDAGTYSPPYGYGMDVW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO:303)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIDS WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASYLESGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQRF QSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:304)
29D	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF HSRGMHWVRQAPGKGLEWVAVITYDGIN KYYADSVGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARDGVYGVYDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:341)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL FSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVA VYYCQQFHYSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:342)
29E	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF RSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVITYDGIN KYYADSVGRFTISRDNKNTLYLQMNSL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL FSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVA

Клон	Домены VH (SEQ ID NO)	Домены VL (SEQ ID NO)
	RAEDTAVYYCARDGVYGVYDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:379)	VYYCQQFHSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:380)
39A	QVQLVQSGAEVVKPKGSSVKVSCASGGTF SSNAIGWVRQAPGQGLEWMGSIPIIGFAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARDSGYGGASSFGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:417)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPA RFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCEQY NNLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:418)
43B	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISS GQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYSGSTRY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAAD TAVYYCARDAPYYYGGYGYMDVWGK GTTVTVSS (SEQ ID NO:455)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ VGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:456)
43B1	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISS GQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYSGSTRY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAAD TAVYYCARDAPYYYGGYGYMDVWGK GTTVTVSS (SEQ ID NO:493)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASESVDS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRQTGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ AGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:494)
43B7	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISS GQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYSGSTRY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAAD TAVYYCARDAPYYYGGYGYMDVWGK GTTVTVSS (SEQ ID NO:531)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASESVDS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYGADSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QDGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:532)
43D	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSL SGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIGASGSTRY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAAD TAVYYCARDTPYYYEGGYGYMDVWGK GTTVTVSS (SEQ ID NO:569)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ VGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:570)
43D7	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSL SGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIGASGSTRY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAAD TAVYYCARDTPYYYEGGYGYMDVWGK GTTVTVSS (SEQ ID NO:607)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASDSVDS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRANGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QAGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:608)
43D8	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSL SGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIGASGSTRY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAAD TAVYYCARDTPYYYEGGYGYMDVWGK GTTVTVSS (SEQ ID NO:645)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSS SFLAWYQQKPGQAPRLLIYGAYS RATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ AGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:646)
43E	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISS GQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYSGSTRY NPSLKSRVTISVDTSKDQFSLKLSVTAAD	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD

Клон	Домены VH (SEQ ID NO)	Домены VL (SEQ ID NO)
	TAVYYCARDTPYYYDGGYYYYMDVWGK GTTVTVSS (SEQ ID NO:683)	RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ VGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:684)
43Ea	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISS GQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYSGSTRY NPSLKSrvTISVDTSKNQFSLKLSVTAAD TAVYYCARDTPYYYDGGYYYYMDVWGK GTTVTVSS (SEQ ID NO:721)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ VGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:722)
54E	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF ANYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGI TVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARGGSKVAALAFDIWGQG TMVTVSS (SEQ ID NO:759)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISN SLNWFYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPS RFSGSRSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQY NFHPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:760)

**Таблица 14: Консенсусная последовательности варибельной области**

Группа	Консенсусные последовательности домена VH (SEQ ID NO)	Консенсусные последовательности домена VL (SEQ ID NO)
1	EVQLLESGLLVQPGSLRLSCAASGFTFS x[D/S]YAMx[A/G]WVRQAPGKGLEWVSx[ A/T]ISGSGGLTYADSVKGRFTISRDNKSN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAPYGY MDVWGKTTVTVSS (SEQ ID NO:761)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQ YKSYITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:762)
25	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT Fx[D/R]x[S/V/A]YGISWVRQAPGQGLEWM GWx[I/V]APYx[S/N]GNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR DAGTYSpx[F/Y]GYGMDVWGQTTVTVSS (SEQ ID NO:763)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx [Q/E/H]SIx[S/D/N]x[S/N]WLAWYQQKPGK APKLLIYx[K/S]Ax[S/Y]x[S/Y/N]LEx[S/Y]G VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYC Qx[Q/L/R]FQx[S/K]LPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:764)
29	QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTF x[H/R]Sx[R/Y]GMHWVRQAPGKLEWVAV ITYDGINKYYADSVGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDGVYYGVYD YWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:765)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL FSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDV AVYYCQQFHSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:766)
39	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF SSNAIGWVRQAPGQGLEWMGSIPIIGFAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARDGYYYGASSFGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:767)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVS SNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIP ARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCE QYNNLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:768)
43	QVQLQx[E/Q]x[S/W]Gx[P/A]GLx[V/L]KPSx [Q/E]TSLSTCx[T/A]Vx[S/Y]GGsx[L/L]SSGx[	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASx[Q/E/ D]SVx[S/D]SSx[Y/F]LAWYQQKPGQAPRL

Группа	Консенсусные последовательности домена VH (SEQ ID NO)	Консенсусные последовательности домена VL (SEQ ID NO)
	Q/Y]YWSWIRQx[H/P]PGKGLEWIGEIx[Y/G]x[Y/A]SGSTRYNPSLKSRTISVDTSKx[N/D]QFSLKLSVTAADTAVYYCARDx[T/A]PYYYx[E/G/D]GGYYYYMDVWGKTTVTVSS (SEQ ID NO:769)	IYGAx[S/D/F/Y]x[S/T]Rx[A/Q]x[T/N]GIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQx[V/A/D]GVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:770)
54	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFANYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGITVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGSKVAALAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:771)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNSLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVP SRFSGSRSGTDFFTISSLQPEDATYYCQQYNFHPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:772)

**Таблица 15: Последовательности CDR антитела 1F**

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	CD R1 VH	GFTFSDY AMG (SEQ ID NO:1)	DYAMG (SEQ ID NO:7)	GFTFSDY (SEQ ID NO:13)	GFTFSD YAMG (SEQ ID NO:19)	SDYAM G (SEQ ID NO:25)	GFTFSDYA (SEQ ID NO:31)
	CD R2 VH	TISGSGG LTYAD SVKG (SEQ ID NO:2)	TISGSGGLT YYADSVKG (SEQ ID NO:8)	GSGG (SEQ ID NO:14)	TISGSGG LTY (SEQ ID NO:20)	WVSTIS GSGGLT Y (SEQ ID NO:26)	ISGSGGLT (SEQ ID NO:32)
	CD R3 VH	APYGY MDV (SEQ ID NO:3)	APYGYMD V (SEQ ID NO:9)	PYGYMD (SEQ ID NO:15)	APYGY MDV (SEQ ID NO:21)	AKAPY GYMD (SEQ ID NO:27)	AKAPYGYMDV (SEQ ID NO:33)
Посл. CDR VL	CD R1 VL	RASQ SWLA (SEQ ID NO:4)	RASQSSW LA (SEQ ID NO:10)	SQSSW (SEQ ID NO:16)	RASQ SWLA (SEQ ID NO:22)	SSWLA WY (SEQ ID NO:28)	QSSW (SEQ ID NO:34)
	CD R2 VL	KASSLES (SEQ ID NO:5)	KASSLES (SEQ ID NO:11)	KAS (SEQ ID NO:17)	KASSLES (SEQ ID NO:23)	LLIYKA SSLE (SEQ ID NO:29)	KAS (SEQ ID NO:35)

	CD R3 VL	QQYKSYI T (SEQ ID NO:6)	QQYKSYIT (SEQ ID NO:12)	YKSYI (SEQ ID NO:18)	QQYKSY IT (SEQ ID NO:24)	QQYKS YI (SEQ ID NO:30)	QQYKSYIT (SEQ ID NO:36)
Последовательность VH*: EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS <b>GFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGLTTYADSVKGR</b> FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK <b>APYGYMDV</b> VWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:37)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRAS <b>QSISSW</b> LAWYQQKPGKAPKLLIY <b>KASSLES</b> GVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPDDFATYYC <b>QQYKSYIT</b> FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:38)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 16: Последовательности CDR антитела 1G**

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
<b>Посл. CDR VH</b>	CD R1 VH	GFTFSSY AMA (SEQ ID NO:39)	SYAMA (SEQ ID NO:45)	GFTFSSY (SEQ ID NO:51)	GFTFSSY AMA (SEQ ID NO:57)	SSYAM A (SEQ ID NO:63)	GFTFSSYA (SEQ ID NO:69)
	CD R2 VH	AISGSGG LTYAD SVKG (SEQ ID NO:40)	AISGSGGLT YYADSVKG (SEQ ID NO:46)	GSGG (SEQ ID NO:52)	AISGSGG LTY (SEQ ID NO:58)	WVSAIS GSGGLT Y (SEQ ID NO:64)	ISGSGGLT (SEQ ID NO:70)
	CD R3 VH	APYGY MDV (SEQ ID NO:41)	APYGYMD V (SEQ ID NO:47)	PYGYMD (SEQ ID NO:53)	APYGY MDV (SEQ ID NO:59)	AKAPY GYMD (SEQ ID NO:65)	AKAPYGYMDV (SEQ ID NO:71)
<b>Посл. CDR VL</b>	CD R1 VL	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:42)	RASQSISSW LA (SEQ ID NO:48)	QSISSW (SEQ ID NO:54)	RASQSISS WLA (SEQ ID NO:60)	SSWLA WY (SEQ ID NO:66)	QSISSW (SEQ ID NO:72)
	CD R2 VL	KASSLES (SEQ ID NO:43)	KASSLES (SEQ ID NO:49)	KAS (SEQ ID NO:55)	KASSLES (SEQ ID NO:61)	LLIYKA SSLE (SEQ ID NO:67)	KAS (SEQ ID NO:73)

	<i>CD</i>	QQYKSY IT (SEQ ID NO:44)	QQYKSYIT (SEQ ID NO:50)	YKSYI (SEQ ID NO:56)	QQYKSYI T (SEQ ID NO:62)	QQYKS YI (SEQ ID NO:68)	QQYKSYIT (SEQ ID NO:74)
Последовательность VH*: EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS <b>GF</b> TFSSY <b>AM</b> AWVRQAPGKGLEWV <b>SAISGSGGLTYYADSVK</b> <b>GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAPYGYMDVWGKGT</b> TVTVSS (SEQ ID NO:75)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRASQ <b>SISSW</b> LAWYQQKPGKAPKLLIY <b>KASSLES</b> GVPSRFSGSGSGT EFTLTISSLQPDDFATYYC <b>QQYKSYIT</b> FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:76)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 17:**  
**Последовательности CDR**  
**антитела 25A**

		<b>Иллюстративная*</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
<b>Посл. CDR VH</b>	<i>CD</i>	GYTFDV YGIS (SEQ ID NO:77)	VYGIS (SEQ ID NO:83)	GYTFDVY (SEQ ID NO:89)	GYTFDV YGIS (SEQ ID NO:95)	DVYGIS (SEQ ID NO:101)	GYTFDVYG (SEQ ID NO:107)
	<i>R2</i>	WIAPYN GNTNYA QKLGQ (SEQ ID NO:78)	WIAPYNGN TNYAQLQ G (SEQ ID NO:84)	PYNG (SEQ ID NO:90)	WIAPYNG NTN (SEQ ID NO:96)	WMGWI APYNG NTN (SEQ ID NO:102)	IAPYNGNT (SEQ ID NO:108)
	<i>R3</i>	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:79)	DAGTYSPF GYGMDV (SEQ ID NO:85)	AGTYSPFG YGMD (SEQ ID NO:91)	DAGTYSP FGYGM V (SEQ ID NO:97)	ARDAG TYSPFG YGMD (SEQ ID NO:103)	ARDAGTYSPFGT GMDV (SEQ ID NO:109)
<b>Посл. CDR VL</b>	<i>R1</i>	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:80)	RASQSISSW LA (SEQ ID NO:86)	SQSISSW (SEQ ID NO:92)	RASQSISS WLA (SEQ ID NO:98)	SSWLA WY (SEQ ID NO:104)	QSISSW (SEQ ID NO:110)
	<i>R2</i>	KASSLES (SEQ ID NO:81)	KASSLES (SEQ ID NO:87)	KAS (SEQ ID NO:93)	KASSLES (SEQ ID NO:99)	LLIYKA SSLE	KAS (SEQ ID NO:111)

						(SEQ ID NO:105)	
<i>CD</i>	QQFQSL PPFT	QQFQSLPPF T	FQSLPPF (SEQ ID NO:94)	QQFQSLP PFT	QQFQSL PPF	QQFQSL (SEQ ID NO:106)	QQFQSLPPFT (SEQ ID NO:112)
<i>R3</i>	(SEQ ID NO:82)	(SEQ ID NO:88)		(SEQ ID NO:100)	(SEQ ID NO:106)		
<i>VL</i>							
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFDVGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYNGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYS <del>PF</del> GYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:113)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFRSGSGGT EFTLTISSLPDDFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:114)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 18:**

**Последовательности CDR  
антитела 25A3**

		Иллюстративная *	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
<b>Посл · CDR VH</b>	<i>CD</i>	GYTFDV YGIS	VYGIS (SEQ ID NO:121)	GYTFDVY (SEQ ID NO:127)	GYTFDVY GIS (SEQ ID NO:133)	DVYGIS (SEQ ID NO:139)	GYTFDVY G (SEQ ID NO:145)
	<i>R1</i>	(SEQ ID NO:115)					
	<i>VH</i>	WIAPYS GNTNY AQKLQ G	WIAPYSGN TNYAQKLQ G (SEQ ID NO:122)	PYSG (SEQ ID NO:128)	WIAPYSG NTN (SEQ ID NO:134)	WMGWI APYSGN TN (SEQ ID NO:140)	IAPYSGNT (SEQ ID NO:146)
<i>CD</i>	DAGTYS PFYGM DV	DAGTYS PFYGM DV (SEQ ID NO:123)	DAGTYS PFYGM DV (SEQ ID NO:123)	AGTYS PFYGM DV (SEQ ID NO:129)	DAGTYS PFYGM V (SEQ ID NO:135)	ARDAGT YSPFY GMD (SEQ ID NO:141)	ARDAGTYS PFYGM DV (SEQ ID NO:147)
<i>R3</i>	(SEQ ID NO:117)						
<i>VH</i>							

<b>Посл</b>	<i>CD</i>	QASQSI NNWLA	QASQSINN WLA	SQSINNW (SEQ ID NO:130)	QASQSIN NWLA	NNWLA WY	QSINNW (SEQ ID NO:148)
	<i>R1</i>	(SEQ ID NO:118)	(SEQ ID NO:124)		(SEQ ID NO:136)	(SEQ ID NO:142)	
	<i>VL</i>						
<b>CDR</b>	<i>CD</i>	KAYNLE S	KAYNLES (SEQ ID NO:125)	KAY (SEQ ID NO:131)	KAYNLES (SEQ ID NO:137)	LLIYKA YNLE	KAY (SEQ ID NO:149)
	<i>R2</i>	(SEQ ID NO:119)				(SEQ ID NO:143)	
	<i>VL</i>						
<b>VL</b>	<i>CD</i>	QLFQSL PPFT	QLFQSLPPF T	FQSLPPF (SEQ ID NO:132)	QLFQSLPP FT	QLFQSL PPF	QLFQSLPPFT (SEQ ID NO:150)
	<i>R3</i>	(SEQ ID NO:120)	(SEQ ID NO:126)		(SEQ ID NO:138)	(SEQ ID NO:144)	
	<i>VL</i>						
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPPFGYGM <del>VD</del> VWGQGT <del>TV</del> VSS (SEQ ID NO:151)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCQASQSINNWLAWYQKPKGKAPKLLIYKAYNLESGVPSRFSGSGS GTEFTLTISLQPD <del>DF</del> ATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:152)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 19а:**  
**Последовательности CDR**  
**антитела 25A5**

		<b>Иллюстративная*</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
<b>Посл.</b>	<i>CD</i>	GYTFDV YGIS	VYGIS (SEQ ID NO:159)	GYTFDVY (SEQ ID NO:165)	GYTFDV YGIS	DVYGIS (SEQ ID NO:177)	GYTFDVYG (SEQ ID NO:183)
	<i>R1</i>	(SEQ ID NO:153)			(SEQ ID NO:171)		
	<i>VH</i>						
<b>CDR</b>	<i>CD</i>	WIAPYS GNTNYA	WIAPYSGN TNYAQKLQ	PYSG (SEQ ID NO:166)	WIAPYSG NTN	WMGWI APYSGN	IAPYSGNT (SEQ ID NO:184)
	<i>R2</i>	QKLGQ (SEQ ID NO:154)	G (SEQ ID NO:160)		(SEQ ID NO:172)	TN (SEQ ID NO:178)	
	<i>VH</i>						
<b>VH</b>	<i>CD</i>	DAGTYS PFGYGM	DAGTYSPPF GYGMDV	AGTYSPPFG YGMD	DAGTYS FGYGM	ARDAG TYSPPFG	ARDAGTYSPPFGT GMDV
	<i>R3</i>	(SEQ ID NO:154)			(SEQ ID NO:172)	(SEQ ID NO:178)	
	<i>VH</i>	DV			V	YGMD	(SEQ ID NO:185)

		(SEQ ID NO:155)	(SEQ ID NO:161)	(SEQ ID NO:167)	(SEQ ID NO:173)	(SEQ ID NO:179)	
<b>Посл. CDR VL</b>	<i>CD</i>	RASESIS NWLA	RASESISNW LA	SEISISNW (SEQ ID NO:168)	RASESISN WLA	SNWLA WY	ESISNW (SEQ ID NO:186)
	<i>R1</i>	(SEQ ID NO:156)	(SEQ ID NO:162)		(SEQ ID NO:174)	(SEQ ID NO:180)	
	<i>VL</i>						
	<i>CD</i>	KAYSLE Y	KAYSLEY (SEQ ID NO:163)	KAY (SEQ ID NO:169)	KAYSLEY (SEQ ID NO:175)	LLIYKA YSLE	KAY (SEQ ID NO:187)
	<i>R2</i>	(SEQ ID NO:157)				(SEQ ID NO:181)	
	<i>VL</i>						
	<i>CD</i>	QQFQKL PPFT	QQFQKLPPF T	FQKLPPF (SEQ ID NO:170)	QQFQKLP PFT	QQFQKL PPF	QQFQKLPPFT (SEQ ID NO:188)
	<i>R3</i>	(SEQ ID NO:158)	(SEQ ID NO:164)		(SEQ ID NO:176)	(SEQ ID NO:182)	
	<i>VL</i>						
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFD <b>VY</b> GISWVRQAPGQGLEWMGW <b>WIAPYSGNTNYAQKL</b> <b>QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGT<b>YSPFGYGM</b>DVWVGQGT<b>TVT</b>VSS (SEQ ID NO:189)       </b>							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRASESIS <b>NW</b> LAWYQQKPGKAPKLLIY <b>KAYSLEY</b> GVPSRFRSGSGS TEFTLTISSLPDDFATYYC <b>QQFQKLPPFT</b> FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:190)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 19b:**

**Последовательности CDR  
антитела 25A5-T**

		<b>Иллюстративная*</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
<b>Посл. CDR VH</b>	<i>CD</i>	GYTFDA YGIS	AYGIS (SEQ ID NO:890)	GYTFDAY (SEQ ID NO:896)	GYTFDA YGIS	DAYGIS (SEQ ID NO:908)	GYTFDAYG (SEQ ID NO:914)
	<i>R1</i>	(SEQ ID NO:884)			(SEQ ID NO:902)		
	<i>VH</i>						
	<i>CD</i>	WIAPYS GNTNYA QKLQG	WIAPYSGN TNYAQKLQ G	PYSG (SEQ ID NO:897)	WIAPYSG NTN	WMGWI APYSGN TN	IAPYSGNT (SEQ ID NO:915)
	<i>R2</i>	(SEQ ID NO:885)	(SEQ ID NO:891)		(SEQ ID NO:903)	(SEQ ID NO:909)	
	<i>VH</i>						

		DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:886)	DAGTYS PFGYGM DY (SEQ ID NO:892)	AGTYS PFGYGM YGM (SEQ ID NO:898)	DAGTYS PFGYGM V (SEQ ID NO:904)	ARDAG TYS PFGYGM YGM (SEQ ID NO:910)	ARDAG TYS PFGYGM DY (SEQ ID NO:916)
<b>Посл. CDR VL</b>	<i>CD</i>	RASESIS NWLA (SEQ ID NO:887)	RASESIS NWLA (SEQ ID NO:893)	SE SISNW (SEQ ID NO:899)	RASESIS NWLA (SEQ ID NO:905)	SNWLA WY (SEQ ID NO:911)	ESIS NW (SEQ ID NO:917)
	<i>R1</i>	KAYSLE Y (SEQ ID NO:888)	KAYSLE Y (SEQ ID NO:894)	KAY (SEQ ID NO:900)	KAYSLE (SEQ ID NO:906)	LLIYKA YSLE (SEQ ID NO:912)	KAY (SEQ ID NO:918)
	<i>VL</i>	QQFQKL PPFT (SEQ ID NO:889)	QQFQKL PPFT (SEQ ID NO:895)	FQKL PPFT (SEQ ID NO:901)	QQFQKL PPFT (SEQ ID NO:907)	QQFQKL PPFT (SEQ ID NO:913)	QQFQKL PPFT (SEQ ID NO:919)
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFDAYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPIYSGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSYFPGYGMVWVGGTTVTVSS (SEQ ID NO:836)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSLEYGVPSRFSGSGSG TEFTLTISLQPDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:837)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 20:**

**Последовательности CDR  
антитела 25G**

		<b>Иллюстративная*</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
<b>Посл. CDR VH</b>	<i>CD</i>	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:191)	SYGIS (SEQ ID NO:197)	GYTFRSY (SEQ ID NO:203)	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:209)	RSYGIS (SEQ ID NO:215)	GYTFRSYG (SEQ ID NO:221)
	<i>R1</i>	WVAPYN GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:191)	WVAPYNGN TNYAQKLQ G (SEQ ID NO:197)	PYNG (SEQ ID NO:204)	WVAPYN GNTN (SEQ ID NO:210)	WMGW VAPYN GNTN (SEQ ID NO:215)	VAPYNGNT (SEQ ID NO:222)
	<i>VH</i>						

		(SEQ ID NO:192)	(SEQ ID NO:198)			(SEQ ID NO:216)	
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VH</i>	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:193)	DAGTYSPY GYGMDV (SEQ ID NO:199)	AGTYSPYG YGMD (SEQ ID NO:205)	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:211)	ARDAG TYSPYG YGMD (SEQ ID NO:217)	ARDAGTYSPYGY GMDV (SEQ ID NO:223)
<b>Пос.л</b> <b>.</b> <b>CDR</b> <b>VL</b>	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VL</i>	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:194)	RASQSISSW LA (SEQ ID NO:200)	SQSISSW (SEQ ID NO:206)	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:212)	SSWLA WY (SEQ ID NO:218)	QSISSW (SEQ ID NO:224)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VL</i>	KASSLES (SEQ ID NO:195)	KASSLES (SEQ ID NO:201)	KAS (SEQ ID NO:207)	KASSLES (SEQ ID NO:213)	LLIYKA SSLE (SEQ ID NO:219)	KAS (SEQ ID NO:225)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VL</i>	QQFQSLP PFT (SEQ ID NO:196)	QQFQSLPPF T (SEQ ID NO:202)	FQSLPPF (SEQ ID NO:208)	QQFQSL PPFT (SEQ ID NO:214)	QQFQSL PPF (SEQ ID NO:220)	QQFQSLPPFT (SEQ ID NO:226)
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAPYNGNTNYAQK LQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPYGYGMDVWGQTTVTVSS (SEQ ID NO:227)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGST EFTLTISSLPDFFATYYCCQQFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:228)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 21:**

**Последовательности CDR**  
**антитела 25G1**

		<b>Ил.постр</b> <b>ативная*</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
<b>Пос.л</b> <b>.</b> <b>CDR</b> <b>VH</b>	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VH</i>	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:229)	SYGIS (SEQ ID NO:235)	GYTFRSY (SEQ ID NO:241)	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:247)	RSYGIS (SEQ ID NO:253)	GYTFRSYG (SEQ ID NO:259)

	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VH</i>	WVAPYS GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:230)	WVAPYSGN TNYAQKLQ G (SEQ ID NO:236)	PYSG (SEQ ID NO:242)	WVAPYS GNT N (SEQ ID NO:248)	WMGW VAPYSG NTN (SEQ ID NO:254)	VAPYSGNT (SEQ ID NO:260)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VH</i>	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:231)	DAGTYSPY GYGMDV (SEQ ID NO:237)	AGTYSPYG YGMD (SEQ ID NO:243)	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:249)	ARDAG TYSPTYG YGMD (SEQ ID NO:255)	ARDAGTYSPYGY GMDV (SEQ ID NO:261)
<b>Посл . CDR VL</b>	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VL</i>	RASHSID SWLA (SEQ ID NO:232)	RASHSIDSW LA (SEQ ID NO:238)	SHSIDSW (SEQ ID NO:244)	RASHSID SWLA (SEQ ID NO:250)	DSWLA WY (SEQ ID NO:256)	HSIDSW (SEQ ID NO:262)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VL</i>	KASYLE S (SEQ ID NO:233)	KASYLES (SEQ ID NO:239)	KAS (SEQ ID NO:245)	KASYLE S (SEQ ID NO:251)	LLIY KASYLE (SEQ ID NO:257)	KAS (SEQ ID NO:263)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VL</i>	QLFQSLP PFT (SEQ ID NO:234)	QLFQSLPPF T (SEQ ID NO:240)	FQSLPPF (SEQ ID NO:246)	QLFQSLP PFT (SEQ ID NO:252)	QLFQSL PPF (SEQ ID NO:258)	QLFQSLPPFT (SEQ ID NO:264)

Последовательность VH\*:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVWVAPYSGNTNYAQKL  
QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPYGYGMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID  
NO:265)

Последовательность VL\*:

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASHSIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASYLESVPSRFRSGSGSG  
TEFTLTISSLQPDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:266)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 22:**

**Последовательности CDR  
антитела 25G9**

	<b>Иллюстративная *</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
--	-------------------------	--------------	----------------	------------	----------------	-------------

<b>Посл. CDR VH</b>	<i>CD</i>	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:267)	SYGIS (SEQ ID NO:273)	GYTFRSY (SEQ ID NO:279)	GYTFRSY GIS (SEQ ID NO:285)	RSYGIS (SEQ ID NO:291)	GYTFRSYG (SEQ ID NO:297)
	<i>R1</i>						
	<i>VH</i>						
<b>Посл. CDR VH</b>	<i>CD</i>	WVAPY SGNT NYAQK LQG (SEQ ID NO:268)	WVAPYSGN TNYAQKLQ G (SEQ ID NO:274)	PYSG (SEQ ID NO:280)	WVAPYS GNTN (SEQ ID NO:286)	WMGW VAPYSG NTN (SEQ ID NO:292)	VAPYSGNT (SEQ ID NO:298)
	<i>R2</i>						
	<i>VH</i>						
<b>Посл. CDR VH</b>	<i>CD</i>	DAGTYS PYGY GMDV (SEQ ID NO:269)	DAGTYSPY GYGMDV (SEQ ID NO:275)	AGTYSPYG YGMD (SEQ ID NO:281)	DAGTYSP YGYGMD V (SEQ ID NO:287)	ARDAG TYSPYG YGMD (SEQ ID NO:293)	ARDAGTYSPYGY GMDV (SEQ ID NO:299)
	<i>R3</i>						
	<i>VH</i>						
<b>Посл. CDR VL</b>	<i>CD</i>	QASQSI DSWLA (SEQ ID NO:270)	QASQSIDSW LA (SEQ ID NO:276)	SQSIDSW (SEQ ID NO:282)	QASQSID SWLA (SEQ ID NO:288)	DSWLA WY (SEQ ID NO:294)	QSIDSW (SEQ ID NO:300)
	<i>R1</i>						
	<i>VL</i>						
<b>Посл. CDR VL</b>	<i>CD</i>	SASYLE S (SEQ ID NO:271)	SASYLES (SEQ ID NO:277)	SAS (SEQ ID NO:283)	SASYLES (SEQ ID NO:289)	LLIYSAS YLE (SEQ ID NO:295)	SAS (SEQ ID NO:301)
	<i>R2</i>						
	<i>VL</i>						
<b>Посл. CDR VL</b>	<i>CD</i>	QRFQSL PPFT (SEQ ID NO:272)	QRFQSLPPF T (SEQ ID NO:278)	FQSLPPF (SEQ ID NO:284)	QRFQSLP PFT (SEQ ID NO:290)	QRFQSL PPF (SEQ ID NO:296)	QRFQSLPPFT (SEQ ID NO:302)
	<i>R3</i>						
	<i>VL</i>						

Последовательность VH\*:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVWVAPYSGNTNYAQKL  
QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPYGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID  
NO:303)

Последовательность VL\*:

DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCQASQSIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASYLESVPSRFGSGSG  
TEFTLTISSLQPDDFATYYCQRFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:304)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 23:**

**Последовательности CDR  
антитела 29D**

		<b>Иллюстр ативная*</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
Посл. CDR VH	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VH</i>	GFTFHS RGMH (SEQ ID NO:305)	SRGMH (SEQ ID NO:311)	GFTFHSR (SEQ ID NO:317)	GFTFHSR GMH (SEQ ID NO:323)	HSRGM H (SEQ ID NO:329)	GFTFHSRG (SEQ ID NO:335)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VH</i>	VITYDGI NKYYAD SVEG (SEQ ID NO:306)	VITYDGINK YYADSVEG (SEQ ID NO:312)	YDGI (SEQ ID NO:318)	VITYDGI NKY (SEQ ID NO:324)	WVAVIT YDGINK Y (SEQ ID NO:330)	ITYDGINK (SEQ ID NO:336)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VH</i>	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:307)	DGVYYGV YDY (SEQ ID NO:313)	GVYYGVY D (SEQ ID NO:319)	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:325)	ARDGV YYGVY D (SEQ ID NO:331)	ARDGVYYGVYD Y (SEQ ID NO:337)
Посл. CDR VL	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VL</i>	KSSQSV LFSSNN KNYLA (SEQ ID NO:308)	KSSQSVLFS SNNKNYLA (SEQ ID NO:314)	SQSVLFSSN NKNY (SEQ ID NO:320)	KSSQSVL FSSNNKN YLA (SEQ ID NO:326)	LFSSNN KNYLA WY (SEQ ID NO:332)	QSVLFSSNNKNY (SEQ ID NO:338)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VL</i>	WASTRE S (SEQ ID NO:309)	WASTRES (SEQ ID NO:315)	WAS (SEQ ID NO:321)	WASTRES (SEQ ID NO:327)	LLIYWA STRE (SEQ ID NO:333)	WAS (SEQ ID NO:339)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VL</i>	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:310)	QQFHSYPL T (SEQ ID NO:316)	FHSYPL (SEQ ID NO:322)	QQFHSYP LT (SEQ ID NO:328)	QQFHSY PL (SEQ ID NO:334)	QQFHSYPLT (SEQ ID NO:340)

Последовательность VH\*:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFHSRGMHW**VRQAPGKGLEWVAVITYDGINKYYADSV  
**EGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGVYYGVYDY**WGQGLTVSS (SEQ ID  
NO:341)

Последовательность VL\*:

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLA**WYQQKPGQP**PKLLIYWASTRESGVPDR  
FSGSGGTDFLTISLQAEDVAVYYC**QQFHSYPLT**FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:342)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 24:

## Последовательности CDR

антитела 29E

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VH</i>	GFTFRS YGMH (SEQ ID NO:343)	SYGMH (SEQ ID NO:349)	GFTFRSY (SEQ ID NO:355)	GFTFRSY GMH (SEQ ID NO:361)	RSYGM H (SEQ ID NO:367)	GFTFRSYG (SEQ ID NO:373)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VH</i>	VITYDGI NKYYAD SVEG (SEQ ID NO:344)	VITYDGINK YYADSVEG (SEQ ID NO:350)	YDGI (SEQ ID NO:356)	VITYDGIN KY (SEQ ID NO:362)	WVAVIT YDGINK Y (SEQ ID NO:368)	ITYDGINK (SEQ ID NO:374)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VH</i>	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:345)	DGVYYGV YDY (SEQ ID NO:351)	GVYYGVY D (SEQ ID NO:357)	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:363)	ARDGV YYGVY D (SEQ ID NO:369)	ARDGVYYGVYD Y (SEQ ID NO:375)
Посл. CDR VL	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VL</i>	KSSQSV LFSSNN KNYLA (SEQ ID NO:346)	KSSQSVLFS SNNKNYLA (SEQ ID NO:352)	SQSVLFSS NNKNY (SEQ ID NO:358)	KSSQSVLF SSNNKNY LA (SEQ ID NO:364)	LFSSNN KNYLA WY (SEQ ID NO:370)	QSVLFSSNNKNY (SEQ ID NO:376)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VL</i>	WASTRE S (SEQ ID NO:347)	WASTRES (SEQ ID NO:353)	WAS (SEQ ID NO:359)	WASTRES (SEQ ID NO:365)	LLIYWA STRE (SEQ ID NO:371)	WAS (SEQ ID NO:377)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VL</i>	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:348)	QQFHSYPL T (SEQ ID NO:354)	FHSYPL (SEQ ID NO:360)	QQFHSYP LT (SEQ ID NO:366)	QQFHSY PL (SEQ ID NO:372)	QQFHSYPLT (SEQ ID NO:378)
Последовательность VH*: QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <b>GFTFRSYGMHW</b> VRQAPGKGLEWVAVITY <b>DGINKYYADSV</b> E <b>GRFTISRDN</b> SKNTLYLQMN <b>SLRAEDTAVYYCARDGVYYGVYDY</b> WGQGLTLTVSS (SEQ ID NO:379)							
Последовательность VL*: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCK <b>SQSVLFSSNNKNYLA</b> WYQQKPGQPPKLLIYW <b>ASTRES</b> GV <b>PDR</b> FSGSGSGTDFLT <b>ISSLAEDVAVYYCQQFHSYPLT</b> FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:380)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 25:

Последовательности CDR  
антитела 39А

		Иллюстр ативная *	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	CD R1 VH	GGTFSS NAIG (SEQ ID NO:381)	SNAIG (SEQ ID NO:387)	GGTFSSN (SEQ ID NO:393)	GGTFSSN AIG (SEQ ID NO:399)	SSNAIG (SEQ ID NO:405)	GGTFSSNA (SEQ ID NO:411)
	CD R2 VH	SIPIIGF ANYAQ KFQG (SEQ ID NO:382)	SIPIIGFAN YAQKFQG (SEQ ID NO:388)	PIIG (SEQ ID NO:394)	SIPIIGFA N (SEQ ID NO:400)	WMGSIP IIGFAN (SEQ ID NO:406)	IPIIGFA (SEQ ID NO:412)
	CD R3 VH	DSGYYY GASSFG MDV (SEQ ID NO:383)	DSGYYYG ASSFGMDV (SEQ ID NO:389)	SGYYYGAS SFGMD (SEQ ID NO:395)	DSGYYY GASSFG MDV (SEQ ID NO:401)	ARDSGY YYGASS FGMD (SEQ ID NO:407)	ARDSGYYYGASS FGMDV (SEQ ID NO:413)
Посл. CDR VL	CD R1 VL	RASQSV SSNLA (SEQ ID NO:384)	RASQSVSS NLA (SEQ ID NO:390)	SQSVSSN (SEQ ID NO:396)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:402)	SSNLAW Y (SEQ ID NO:408)	QSVSSN (SEQ ID NO:414)
	CD R2 VL	GASTRA T (SEQ ID NO:385)	GASTRAT (SEQ ID NO:391)	GAS (SEQ ID NO:397)	GASTRA T (SEQ ID NO:403)	LLIYGAS TRA (SEQ ID NO:409)	GAS (SEQ ID NO:415)
	CD R3 VL	EQYNNL PLT (SEQ ID NO:386)	EQYNNLPL T (SEQ ID NO:392)	YNNLPL (SEQ ID NO:398)	EQYNNL PLT (SEQ ID NO:404)	EQYNNL PL (SEQ ID NO:410)	EQYNNLPLT (SEQ ID NO:416)
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFSSNAIGWVRQAPGQGLEWMGSIPIIGFANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSDGYYYGASSFGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:417)							
Последовательность VL*: EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSTEFTLTISSLQSEDFAVYYCEQYNNLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:418)							

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 26:

**Последовательности CDR  
антитела 43В**

		<b>Иллюстративная*</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
<b>Посл . CDR VH</b>	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VH</i>	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:419)	SGQYWS (SEQ ID NO:425)	GGSISSGQ (SEQ ID NO:431)	GGSISSGQ YWS (SEQ ID NO:437)	SSGQYW S (SEQ ID NO:443)	GGSISSGQY (SEQ ID NO:449)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VH</i>	EIYYSGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:420)	EIYYSGSTR YNPSLKS (SEQ ID NO:426)	YSG (SEQ ID NO:432)	EIYYSGST R (SEQ ID NO:438)	WIGEIYY SGSTR (SEQ ID NO:444)	IYYSGST (SEQ ID NO:450)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VH</i>	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID NO:421)	DAPYYYGG GGYYYMD V (SEQ ID NO:427)	APYYYGG GGYYYMD (SEQ ID NO:433)	DAPYYYG GGYYY MDV (SEQ ID NO:439)	ARDAPY YYGGY YYYMD (SEQ ID NO:445)	ARDAPYYYGGG YYYMDV (SEQ ID NO:451)
<b>Посл . CDR VL</b>	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VL</i>	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:422)	RASQSVSSS YLA (SEQ ID NO:428)	SQSVSSSY (SEQ ID NO:434)	RASQSVS SSSYLA (SEQ ID NO:440)	SSSYLA WY (SEQ ID NO:446)	QSVSSSY (SEQ ID NO:452)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VL</i>	GASSRA T (SEQ ID NO:423)	GASSRAT (SEQ ID NO:429)	GAS (SEQ ID NO:435)	GASSRAT (SEQ ID NO:441)	LLIYGAS SRA (SEQ ID NO:447)	GAS (SEQ ID NO:453)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VL</i>	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:424)	QQVGVPY T (SEQ ID NO:430)	VGVPY (SEQ ID NO:436)	QQVGVP YT (SEQ ID NO:442)	QQVGVV PY (SEQ ID NO:448)	QQVGVPY (SEQ ID NO:454)
Последовательность VH*: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYYSGSTRYNPSLKSR VTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDAPYYYGGGYYYMDVWVGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:455)							
Последовательность VL*:							

EIVLTQSPGTL<sup>S</sup>LSPGERATL<sup>S</sup>CRASQSVSSSYLA<sup>W</sup>YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG  
 TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQVGVV<sup>P</sup>YTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:456)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 27:

Последовательности CDR  
 антитела 43B1

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. · CDR VH	CD	GGSISSG	SGQYWS	GGSISSGQ	GGSISSGQ	SSGQYW	GGSISSGQY
	R1	QYWS	(SEQ ID NO:463)	(SEQ ID NO:469)	YWS	S	(SEQ ID NO:487)
	VH	(SEQ ID NO:457)			(SEQ ID NO:475)	(SEQ ID NO:481)	
CDR VH	CD	EIYYSGS	EIYYSGSTR	YSG	EIYYSGST	WIGEIYY	IYYSGST
	R2	TRYNPS	YNPSLKS	(SEQ ID NO:470)	R	SGSTR	(SEQ ID NO:488)
	VH	LKS	(SEQ ID NO:464)		(SEQ ID NO:476)	(SEQ ID NO:482)	
CDR VH	CD	DAPYYY	DAPYYYGG	APYYYGG	DAPYYYG	ARDAPY	ARDAPYYYGGG
	R3	GGGYYY	GYYYYMD	GYYYYMD	GGGYYY	YYGGGY	YYYYMDV
	VH	YMDV	V	(SEQ ID NO:471)	MDV	YYYMD	(SEQ ID NO:489)
Посл. · CDR VL	CD	RASESV	RASEVDSS	SESV <sup>D</sup> SSY	RASEVD	DSSYLA	ESVDSSY
	R1	DSSYLA	YLA	(SEQ ID NO:472)	SSYLA	WY	(SEQ ID NO:490)
	VL	(SEQ ID NO:460)	(SEQ ID NO:466)		(SEQ ID NO:478)	(SEQ ID NO:484)	
CDR VL	CD	GASTRQ	GASTRQT	GAS	GASTRQT	LLIYGAS	GAS
	R2	T	(SEQ ID NO:467)	(SEQ ID NO:473)	(SEQ ID NO:479)	TRQ	(SEQ ID NO:491)
	VL	(SEQ ID NO:461)			(SEQ ID NO:485)		
CDR VL	CD	QQAGVV	QQAGVVPY	AGVVPY	QQAGVVP	QQAGVV	QQAGVVPYT
	R3	PYT	T	(SEQ ID NO:474)	YT	PY	(SEQ ID NO:492)
	VL	(SEQ ID NO:462)	(SEQ ID NO:468)		(SEQ ID NO:480)	(SEQ ID NO:486)	
Последовательность VH*: QVQLQESGPGLVKPSQTL <sup>S</sup> LCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYYSGSTRYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDAPYYYGGGYYYYMDVWVGKGT <sup>T</sup> VTVSS (SEQ ID NO:493)							
Последовательность VL*:							

EIVLTQSPGTL~~SL~~SPGERATL~~SC~~RASESV~~D~~SSYLA~~WY~~Q~~Q~~KPGQAP~~RL~~LIYGAST~~R~~QTGIPDRFSGSGSG  
 TDFTLTISRLEPEDFAVYYC~~Q~~QAGV~~V~~PYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:494)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 28:

Последовательности CDR

антитела 43B7

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. · CDR VH	CD R1 VH	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:495)	SGQYWS (SEQ ID NO:501)	GGSISSGQ (SEQ ID NO:507)	GGSISSGQ YWS (SEQ ID NO:513)	SSGQYWS (SEQ ID NO:519)	GGSISSGQY (SEQ ID NO:525)
	CD R2 VH	EIYYSGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:496)	EIYYSGSTR YNPSLKS (SEQ ID NO:502)	YSG (SEQ ID NO:508)	EIYYSGST R (SEQ ID NO:514)	WIGEIYY SGSTR (SEQ ID NO:520)	IYYSGST (SEQ ID NO:526)
	CD R3 VH	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID NO:497)	DAPYYYGG GYYYYMD V (SEQ ID NO:503)	APYYYGG GYYYYMD (SEQ ID NO:509)	DAPYYYG GGYYY MDV (SEQ ID NO:515)	ARDAPY YYGGGY YYYMD (SEQ ID NO:521)	ARDAPYYYGGG YYYYMDV (SEQ ID NO:527)
Посл. · CDR VL	CD R1 VL	RASESV DSSYLA (SEQ ID NO:498)	RASESV <del>D</del> SS YLA (SEQ ID NO:504)	SESVDSSY (SEQ ID NO:510)	RASESV <del>D</del> SSYLA (SEQ ID NO:516)	DSSYLA WY (SEQ ID NO:522)	ESVDSSY (SEQ ID NO:528)
	CD R2 VL	GADSRA T (SEQ ID NO:499)	GADSRAT (SEQ ID NO:505)	GAD (SEQ ID NO:511)	GADSRAT (SEQ ID NO:517)	LLIYGAD SRA (SEQ ID NO:523)	GAD (SEQ ID NO:529)
	CD R3 VL	QQDGVV PYT (SEQ ID NO:500)	QQDGVVPY T (SEQ ID NO:506)	DGVVPY (SEQ ID NO:512)	QQDGVVP YT (SEQ ID NO:518)	QQDGVV PY (SEQ ID NO:524)	QQDGVVPYT (SEQ ID NO:530)
Последовательность VH*: QVQLQESGPGLVKPSQTL <del>SL</del> TCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYYSGSTRYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDAPYYYGGGYYYYMDVWVGKGT <del>TV</del> TVSS (SEQ ID NO:531)							
Последовательность VL*:							

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASEVDSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGADSRATGIPDRFSGSGSG  
 TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:532)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 29:

Последовательности CDR  
 антитела 43D

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	CD	GGSLSG	GYYS	GGSLSGY	GGSLSGY	SGYYWS	GGSLSGYY
	R1	YYWS	(SEQ ID NO:539)	(SEQ ID NO:545)	YWS	(SEQ ID NO:557)	(SEQ ID NO:563)
	VH	(SEQ ID NO:533)			(SEQ ID NO:551)		
Посл. CDR VH	CD	EIGASGS	EIGASGSTR	ASG	EIGASGST	WIGEIGA	IGASGST
	R2	TRYNPS	YNPSLKS	(SEQ ID NO:546)	R	SGSTR	(SEQ ID NO:564)
	VH	LKS	(SEQ ID NO:540)		(SEQ ID NO:552)	(SEQ ID NO:558)	
Посл. CDR VH	CD	DTPYYY	DTPYYYEG	TPYYYEG	DTPYYYE	ARDTPY	ARDTPYYYEGG
	R3	EGGYYY	GYYYYMD	GYYYYMD	GGYYY	YYEGGY	YYYMDV
	VH	YMDV	V	(SEQ ID NO:547)	MDV	YYYMD	(SEQ ID NO:565)
Посл. CDR VL	CD	RASQSV	RASQSVSSS	SQSVSSSY	RASQSVS	SSSYLA	QSVSSSY
	R1	SSSYL	YLA	(SEQ ID NO:548)	SSSYLA	WY	(SEQ ID NO:566)
	VL	A	(SEQ ID NO:542)		(SEQ ID NO:554)	(SEQ ID NO:560)	
Посл. CDR VL	CD	GASSRA	GASSRAT	GAS	GASSRAT	LLIYGAS	GAS
	R2	T	(SEQ ID NO:543)	(SEQ ID NO:549)	(SEQ ID NO:555)	SRA	(SEQ ID NO:567)
	VL	(SEQ ID NO:537)			(SEQ ID NO:561)		
Посл. CDR VL	CD	QQVGV	QQVGVVPY	VGVPY	QQVGVVP	QQVGVV	QQVGVVPY
	R3	VPYT	T	(SEQ ID NO:550)	YT	PY	(SEQ ID NO:568)
	VL	(SEQ ID NO:538)	(SEQ ID NO:544)		(SEQ ID NO:556)	(SEQ ID NO:562)	
Последовательность VH*: QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSLSGYYWSWIRQPPGKLEWIGEIGASGSTRYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTPYYYEGGYYYYMDVWVGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:569)							

Последовательность VL\*:

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG  
 TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQVGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:570)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 30:

Последовательности CDR  
 антитела 43D7

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	CD	GGSLSG	GYYS	GGSLSGY	GGSLSGY	SGYYWS	GGSLSGYY
	R1	YYWS	(SEQ ID NO:577)	(SEQ ID NO:583)	YWS	(SEQ ID NO:595)	(SEQ ID NO:601)
	VH	(SEQ ID NO:571)			(SEQ ID NO:589)		
Посл. CDR VH	CD	EIGASGS	EIGASGSTR	ASG	EIGASGST	WIGEIGA	IGASGST
	R2	TRYNPS	YNPSLKS	(SEQ ID NO:584)	R	SGSTR	(SEQ ID NO:602)
	VH	LKS	(SEQ ID NO:578)		(SEQ ID NO:590)	(SEQ ID NO:596)	
Посл. CDR VH	CD	DTPYYY	DTPYYYEG	TPYYYEG	DTPYYYE	ARDTPY	ARDTPYYYEGG
	R3	EGGY	GYYYMD	GYYYMD	GGYYY	YYEGGY	YYYMDV
	VH	YMDV	V	(SEQ ID NO:585)	(SEQ ID NO:591)	(SEQ ID NO:597)	(SEQ ID NO:603)
Посл. CDR VL	CD	RASDSV	RASDSVDS	SDSVDSSY	RASDSVD	DSSYLA	DSVDSSY
	R1	DSSYLA	SYLA	(SEQ ID NO:586)	SSYLA	WY	(SEQ ID NO:604)
	VL	(SEQ ID NO:574)	(SEQ ID NO:580)		(SEQ ID NO:592)	(SEQ ID NO:598)	
Посл. CDR VL	CD	GAFSRA	GAFSRAN	GAF	GAFSRAN	LLIYGAF	GAF
	R2	N	(SEQ ID NO:581)	(SEQ ID NO:587)	(SEQ ID NO:593)	SRA	(SEQ ID NO:605)
	VL	(SEQ ID NO:575)			(SEQ ID NO:599)		
Посл. CDR VL	CD	QQAGV	QQAGVVPY	AGVVPY	QQAGVVP	QQAGVV	QQAGVVPYT
	R3	VPYT	T	(SEQ ID NO:588)	YT	PY	(SEQ ID NO:606)
	VL	(SEQ ID NO:576)	(SEQ ID NO:582)		(SEQ ID NO:594)	(SEQ ID NO:600)	

Последовательность VH\*:

QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSLSGYYWSWIRQPPGKLEWIGEIGASGSTRYNPSLKS  
 RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTPYYYEGGYYYMDVWVGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:607)

Последовательность VL\*:

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASDSVDSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRANGIPDRFSGSGSG  
TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQAGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:608)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 31:

Последовательности CDR  
антитела 43D8

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	CD	GGSLSG	GYYS	GGSLSGY	GGSLSGY	SGYYWS	GGSLSGYY
	R1	YYWS	(SEQ ID NO:615)	(SEQ ID NO:621)	YWS	(SEQ ID NO:633)	(SEQ ID NO:639)
	VH	(SEQ ID NO:609)			(SEQ ID NO:627)		
Посл. CDR VH	CD	EIGASGS	EIGASGSTR	ASG	EIGASGST	WIGEIGA	IGASGST
	R2	TRYNPS	YNPSLKS	(SEQ ID NO:622)	R	SGSTR	(SEQ ID NO:640)
	VH	LKS	(SEQ ID NO:616)		(SEQ ID NO:628)	(SEQ ID NO:634)	
Посл. CDR VH	CD	DTPYYY	DTPYYYEG	TPYYYEG	DTPYYYE	ARDTPY	ARDTPYYYEGG
	R3	EGGYYY	GYYYYMD	GYYYYMD	GGYYY	YYEGGY	YYYYMDV
	VH	YMDV	V	(SEQ ID NO:623)	MDV	YYYMD	(SEQ ID NO:641)
Посл. CDR VL	CD	RASQSV	RASQSVSSS	SQSVSSSF	RASQSVS	SSSFLAW	QSVSSSF
	R1	SSSFLA	FLA	(SEQ ID NO:624)	SSFLA	Y	(SEQ ID NO:642)
	VL	(SEQ ID NO:612)	(SEQ ID NO:618)		(SEQ ID NO:630)	(SEQ ID NO:636)	
Посл. CDR VL	CD	GAYSRA	GAYSRAT	GAY	GAYSRAT	LLIYGAY	GAY
	R2	T	(SEQ ID NO:619)	(SEQ ID NO:625)	(SEQ ID NO:631)	SRA	(SEQ ID NO:643)
	VL	(SEQ ID NO:613)			(SEQ ID NO:637)		
Посл. CDR VL	CD	QQAGV	QQAGVVPY	AGVVPY	QQAGVVP	QQAGVV	QQAGVVPYT
	R3	VPYT	T	(SEQ ID NO:626)	YT	PY	(SEQ ID NO:644)
	VL	(SEQ ID NO:614)	(SEQ ID NO:620)		(SEQ ID NO:632)	(SEQ ID NO:638)	

Последовательность VH\*:

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSLSGYYWSWIRQPPGKLEWIGEIGASGSTRYNPSLKS  
RVTISVDTSKSNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTPYYYEGGYYYYMDVWVGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:645)

Последовательность VL\*:

EIVLTQSPGTLSPGERATLSC**RASQSVSSSFLAWYQKPGQAPRLLIY**GAYS**RATGIPDRFSGSGSG**  
 TDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQAGVVPYTFGGG**TKVEIK (SEQ ID NO:646)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 32:

Последовательности CDR  
 антитела 43DE

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	CD	GGSISSG	SGQYWS	GGSISSGQ	GGSISSGQ	SSGQYW	GGSISSGQY
	R1	QYWS	(SEQ ID NO:653)	(SEQ ID NO:659)	YWS	S	(SEQ ID NO:677)
	VH	(SEQ ID NO:647)			(SEQ ID NO:665)	(SEQ ID NO:671)	
Посл. CDR VH	CD	EIYYSGS	EIYYSGSTR	YSG	EIYYSGST	WIGEIYY	IYYSGST
	R2	TRYNPS	YNPSLKS	(SEQ ID NO:660)	R	SGSTR	(SEQ ID NO:678)
	VH	LKS	(SEQ ID NO:654)		(SEQ ID NO:666)	(SEQ ID NO:672)	
Посл. CDR VH	CD	DTPYYY	DTPYYYDG	TPYYYDG	DTPYYYD	ARDTPY	ARDTPYYYDGG
	R3	DGGYY	GYYYYMD	GYYYYMD	GGGYYY	YYDGGY	YYYYMDV
	VH	YYMDV	V	(SEQ ID NO:661)	MDV	YYYMD	(SEQ ID NO:679)
Посл. CDR VL	CD	RASQSV	RASQSVSSS	SQSVSSSY	RASQSVS	SSSYLA	QSVSSSY
	R1	SSSYLA	YLA	(SEQ ID NO:662)	SSSYLA	WY	(SEQ ID NO:680)
	VL	(SEQ ID NO:650)	(SEQ ID NO:656)		(SEQ ID NO:668)	(SEQ ID NO:674)	
Посл. CDR VL	CD	GASSRA	GASSRAT	GAS	GASSRAT	LLIYGAS	GAS
	R2	T	(SEQ ID NO:657)	(SEQ ID NO:663)	(SEQ ID NO:669)	SRA	(SEQ ID NO:681)
	VL	(SEQ ID NO:651)			(SEQ ID NO:675)		
Посл. CDR VL	CD	QQVGV	QQVGVVPY	VGVPY	QQVGVVP	QQVGVV	QQVGVVPY
	R3	VPYT	T	(SEQ ID NO:664)	YT	PY	(SEQ ID NO:682)
	VL	(SEQ ID NO:652)	(SEQ ID NO:658)		(SEQ ID NO:670)	(SEQ ID NO:676)	

Последовательность VH\*:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTV**SGSISSGQYWS**WIRQHPGKGLEWIGE**IYYSGSTRYNPSLKS**R  
 VTISVDTSKDKQFSLKLSVTAADTAVYYC**ARDTPYYYDGGYYYYMDV**WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:683)

Последовательность VL\*:

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG  
TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQVGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:684)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 33:

Последовательности CDR  
антитела 43Еа

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	CD	GGSISSG	SGQYWS	GGSISSGQ	GGSISSGQ	SSGQYW	GGSISSGQY
	R1	QYWS	(SEQ ID NO:691)	(SEQ ID NO:697)	YWS	S	(SEQ ID NO:715)
	VH	(SEQ ID NO:685)			(SEQ ID NO:703)	(SEQ ID NO:709)	
Посл. CDR VH	CD	EIYYSGS	EIYYSGSTR	YSG	EIYYSGST	WIGEIYY	IYYSGST
	R2	TRYNPS	YNPSLKS	(SEQ ID NO:698)	R	SGSTR	(SEQ ID NO:716)
	VH	LKS	(SEQ ID NO:692)		(SEQ ID NO:704)	(SEQ ID NO:710)	
Посл. CDR VH	CD	DTPYYY	DTPYYYDG	TPYYYDG	DTPYYYD	ARDTPY	ARDTPYYYDGG
	R3	DGGYY	GYYYYMD	GYYYYMD	GGGYYY	YYDGGY	YYYYMDV
	VH	YYMDV	V	(SEQ ID NO:699)	MDV	YYYMD	(SEQ ID NO:717)
Посл. CDR VL	CD	RASQSV	RASQSVSSS	SQSVSSSY	RASQSVS	SSSYLA	QSVSSSY
	R1	SSSYLA	YLA	(SEQ ID NO:700)	SSSYLA	WY	(SEQ ID NO:718)
	VL	(SEQ ID NO:688)	(SEQ ID NO:694)		(SEQ ID NO:706)	(SEQ ID NO:712)	
Посл. CDR VL	CD	GASSRA	GASSRAT	GAS	GASSRAT	LLIYGAS	GAS
	R2	T	(SEQ ID NO:695)	(SEQ ID NO:701)	(SEQ ID NO:707)	SRA	(SEQ ID NO:719)
	VL	(SEQ ID NO:689)				(SEQ ID NO:713)	
Посл. CDR VL	CD	QQVGV	QQVGVVPY	VGVPY	QQVGVVP	QQVGVV	QQVGVVPYT
	R3	VPYT	T	(SEQ ID NO:702)	YT	PY	(SEQ ID NO:720)
	VL	(SEQ ID NO:690)	(SEQ ID NO:696)		(SEQ ID NO:708)	(SEQ ID NO:714)	

Последовательность VH\*:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYYSGSTRYNPSLKS  
RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTPYYYDGGYYYYMDVWVGKTTVTVSS (SEQ ID NO:721)

Последовательность VL\*:

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG  
 TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQVGVVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:722)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

**Таблица 34:**

**Последовательности CDR  
 антитела 54E**

		<b>Иллюстративная *</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контакт</b>	<b>IMGT</b>
<b>Посл. CDR VH</b>	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VH</i>	GYTFAN YYMH (SEQ ID NO:723)	NYVMH (SEQ ID NO:729)	GYTFANY (SEQ ID NO:735)	GYTFAN YYMH (SEQ ID NO:741)	ANYVM H (SEQ ID NO:747)	GYTFANY (SEQ ID NO:753)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VH</i>	IINPSGG ITVYAQ KFQG (SEQ ID NO:724)	IINPSGGIT VYAKKFQ G (SEQ ID NO:730)	PSGG (SEQ ID NO:736)	IINPSGGI TV (SEQ ID NO:742)	WMGIIN PSGGIT V (SEQ ID NO:748)	INPSGGIT (SEQ ID NO:754)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VH</i>	GGSKVA ALAFDI (SEQ ID NO:725)	GGSKVAAL AFDI (SEQ ID NO:731)	GSKVAALA FD (SEQ ID NO:737)	GGSKVA ALAFDI (SEQ ID NO:743)	ARGGSK VAALAF D (SEQ ID NO:749)	ARGGSKVAALAF DI (SEQ ID NO:755)
<b>Посл. CDR VL</b>	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VL</i>	QASQDI SNSLN (SEQ ID NO:726)	QASQDISN SLN (SEQ ID NO:732)	SQDISNS (SEQ ID NO:738)	QASQDIS NSLN (SEQ ID NO:744)	SNSLNW Y (SEQ ID NO:750)	QDISNS (SEQ ID NO:756)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VL</i>	DASNLE T (SEQ ID NO:727)	DASNLET (SEQ ID NO:733)	DAS (SEQ ID NO:739)	DASNLET (SEQ ID NO:745)	LLIYDA SNLE (SEQ ID NO:751)	DAS (SEQ ID NO:757)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VL</i>	QQYNFH PLT (SEQ ID NO:728)	QQYNFHPL T (SEQ ID NO:734)	YNFHPL (SEQ ID NO:740)	QQYNFH PLT (SEQ ID NO:746)	QQYNFH PL (SEQ ID NO:752)	QQYNFHPLT (SEQ ID NO:758)
Последовательность VH*:							

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFANYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGITVYAQKF  
**QGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARGGSKVAALAFDIWGQGMVTVSS** (SEQ ID  
 NO:759)

Последовательность VL\*:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**QASQDISNSLNWYQ**KPGKAPKLLIY**DASNLET**GVPSRFSGSRSG  
 TDFTFTISLQPEDIATYYC**QQYNFHPLTFGGG**TKVEIK (SEQ ID NO:760)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

**Таблица 35: Консенсусные последовательности CDR**

Группа антител		1	25	29	39	43	54
Пос. л. CDR VH*	C D R1 V H	GFTFS <sub>x</sub> [D/S] YAM <sub>x</sub> [A/G] (SEQ ID NO:773)	GYTF <sub>x</sub> [D/R] <sub>x</sub> [S/V] YGIS (SEQ ID NO:779)	GFTF <sub>x</sub> [H/R] ]S <sub>x</sub> [R/Y]G MH (SEQ ID NO:785)	GGTFS SNAIG (SEQ ID NO:791)	GGS <sub>x</sub> [I/L]SSG <sub>x</sub> [Q/Y]YWS (SEQ ID NO:797)	GYTF ANY MH (SEQ ID NO:803)
	C D R2 V H	<sub>x</sub> [A/T]ISGSG GLTYADSV KG (SEQ ID NO:774)	W <sub>x</sub> [I/V]APY <sub>x</sub> [S/N] GNTNYAQLQG (SEQ ID NO:780)	VITYDGIN KYYADSV EG (SEQ ID NO:786)	SIPIIG FANYA QKFQG (SEQ ID NO:792)	EI <sub>x</sub> [Y/G] <sub>x</sub> [Y/A] SGSTRYNPSL KS (SEQ ID NO:798)	IINPS GGITV YAQK FQG (SEQ ID NO:804)
	C D R3 V H	APYGYMD V (SEQ ID NO:775)	DAGTYSP <sub>x</sub> [F/Y]G YGMDV (SEQ ID NO:781)	DGVYYGV YDY (SEQ ID NO:787)	DSGY YGASS FGMDV (SEQ ID NO:793)	D <sub>x</sub> [T/A]PYYY <sub>x</sub> [E/G/D]GGYY YYMDV (SEQ ID NO:799)	GGSK VAAL AFDI (SEQ ID NO:805)
Пос. л. CDR VH*	C D	RASQSISSWL A	<sub>x</sub> [R/Q]AS <sub>x</sub> [Q/E/H]S I <sub>x</sub> [S/D/N] <sub>x</sub> [S/N]WL A	KSSQSVLF SSNNKNY LA	RASQS VSSNL A	RAS <sub>x</sub> [Q/E/D]S V <sub>x</sub> [S/D]SS <sub>x</sub> [Y/	QASQ DISNS LN

<b>CDR VL*</b>	<i>R1</i> <i>VL</i>	(SEQ ID NO:776)	(SEQ ID NO:782)	(SEQ ID NO:788)	(SEQ ID NO:794)	F]LA (SEQ ID NO:800)	(SEQ ID NO:80 6)
	<i>C</i> <i>D</i> <i>R2</i> <i>VL</i>	KASSLES (SEQ ID NO:777)	x[K/S]Ax[S/Y]x[S/Y /N]LEx[S/Y] (SEQ ID NO:783)	WASTRES (SEQ ID NO:789)	GASTR AT (SEQ ID NO:795)	GAx[S/D/F/Y]x [S/T]Rx[A/Q]x[ T/N] (SEQ ID NO:801)	DASN LET (SEQ ID NO:80 7)
	<i>C</i> <i>D</i> <i>R3</i> <i>VL</i>	QQYKSYIT (SEQ ID NO:778)	Qx[Q/L/R]FQx[S/K] LPPFT (SEQ ID NO:784)	QQFHSYP LT (SEQ ID NO:790)	EQYNN LPLT (SEQ ID NO:796)	QQx[V/A/D]GV VPYT (SEQ ID NO:802)	QQYN FHPLT (SEQ ID NO:80 8)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 36: Последовательности TF человека, яванского макака и мыши

Вид	Человек ( <i>Homo sapiens</i> )	Яванский макак ( <i>Macaca fascicularis</i> )	Мышь ( <i>Mus musculus</i> )
Полноразмерная последовательность [сигнальная последовательность подчеркнута]	<u>METPAWPRVPRPETAV</u> <u>ARTLLLGWVFAQVAGA</u> SGTTNTVAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPVNQV YTVQISTKSGDWKSKCF YTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNV ESTGSAGEPLYENSPEFT PYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVEDERTLVR RNNTFLSLRDVFGKDLI YTLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE IFYIIGAVFVVIILVILA ISLHKCRKAGVGQSWK	<u>METPAWPRVPRPETAV</u> <u>ARTLLLGWVFAQVAGA</u> SGTTNTVAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPINQV YTVQISTKSGDWKSKCF YTADTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGHV ESTGSTEEPYPENSPEFT PYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVQDEWTLVR RNDTFLSLRDVFGKDLI YTLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRTANRK STDSPVECMGHEKGESR EIFYIIGAVFVVIILVIL AISLHKCKKARVGRSW	<u>MAILVRPRLAALAPTE</u> <u>LGCLLQVTAGAGIPEK</u> AFNLTWISTDFKTILEW QPKPTNYTYTVQISDRS RNWKNKCFSTTDTECD LTDEIVKDVWAYEAK VLSVPRRNSVHGDGDQ LVIHGEEPPFTNAPKFLP YRDTNLGQPVIQQFEQD GRKLVVVKDSLTLVR KNGTFLTLRQVFGKDLG YIITYRKGSSSTGKKNIT NTNEFSIDVEEGVSYCFE VQAMIFSRKTNQNSPGS STVCTEQWKSFLGETLII VGAVVLLATIFIILLSISL CKRRKNRAGQKGNTP SRLA (SEQ ID NO:817)

<b>Вид</b>	<b>Человек (<i>Homo sapiens</i>)</b>	<b>Яванский макак (<i>Macaca fascicularis</i>)</b>	<b>Мышь (<i>Mus musculus</i>)</b>
	ENSPLNVS (SEQ ID NO:809)	KENSPLNVA (SEQ ID NO:813)	
<b>Внеклеточный домен (ECD)</b>	SGTTNTVAAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPVNQV YTVQISTKSGDWKSKCF YTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNV ESTGSAGEPLYENSPEFT PYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVEDERTLVR RNNTFLSLRDVFGKDLI YTLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:810)	SGTTNTVAAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPINQV YTVQISTKSGDWKSKCF YTADTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGHV ESTGSTEEPPEYENSPEFT PYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVQDEWTLVR RNDTFLSLRDVFGKDLI YTLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRRTANRK STDSPVECMGHEKGESR E (SEQ ID NO:814)	AGIPEKAFNLTWISTDFK TILEWQPKPTNYTYTVQ ISDRSRNWKNKCFSTTD TECDLTDEIVKDV TWA YEAKVLSVPRRNSVHG DGDQLVIHGEEPPFTNA PKFLPYRDTNLGQPVIQ QFEQDGRKLN VVKDS LTLVRKNGTFLTLRQVF GKDLGYIITYRKGSSSTG KKTNTNTNEFSIDVEEG VSYCFFVQAMIFSRKTN QNSPGSSTVCTEQWKSFLGE (SEQ ID NO:818)
<b>Последовательность белка TF ECD-His (TF-His)</b>	SGTTNTVAAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPVNQV YTVQISTKSGDWKSKCF YTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNV ESTGSAGEPLYENSPEFT PYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVEDERTLVR RNNTFLSLRDVFGKDLI YTLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE TGHHHHHH (SEQ ID NO:811)	SGTTNTVAAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPINQV YTVQISTKSGDWKSKCF YTADTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGHV ESTGSTEEPPEYENSPEFT PYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVQDEWTLVR RNDTFLSLRDVFGKDLI YTLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRRTANRK STDSPVECMGHEKGESR ETGHHHHHH (SEQ ID NO:815)	AGIPEKAFNLTWISTDFK TILEWQPKPTNYTYTVQ ISDRSRNWKNKCFSTTD TECDLTDEIVKDV TWA YEAKVLSVPRRNSVHG DGDQLVIHGEEPPFTNA PKFLPYRDTNLGQPVIQ QFEQDGRKLN VVKDS LTLVRKNGTFLTLRQVF GKDLGYIITYRKGSSSTG KKTNTNTNEFSIDVEEG VSYCFFVQAMIFSRKTN QNSPGSSTVCTEQWKSFLGETGHHHHHH (SEQ ID NO:819)

Вид	Человек ( <i>Homo sapiens</i> )	Яванский макак ( <i>Macaca fascicularis</i> )	Мышь ( <i>Mus musculus</i> )
Последовательность слитого белка TF ECD-Fc (TF-Fc)	SGTTNTVAAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPVNQV YTVQISTKSGDWKSKCF YTTDTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGNV ESTGSAGEPLYENSPEFT PYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVQDEWTLVR RNNTFLSLRDVFGKDLI YTLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE TGENLYFQGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTP VLDSGDGSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:812)	SGTTNTVAAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPINQV YTVQISTKSGDWKSKCF YTADTECDLTDEIVKDV KQTYLARVFSYPAGHV ESTGSTEEPYPYENSPEFT PYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVQDEWTLVR RNDTFLSLRDVFGKDLI YTLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRRTANRK STDSPVECMGHEKGESR ETGENLYFQGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:816)	AGIPEKAFNLTWISTDFK TILEWQPKPTNYTYTVQ ISDRSRNWKNKCFSTTD TECDLTDEIVKDV TWA YEAKVLSVPRRNSVHG DGDQLVIHGEEPPFTNA PKFLPYRDTNLGQPVIQ QFEQDGRKLNVVVKDS LTLVRKNGTFLTLRQVF GKDLGYIITYRKGSSTG KKTNITNTNEFSIDVEEG VSYCFFVQAMIFSRKTN QNSPGSSTVCTEQWKSF LGETGENLYFQGDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:820)

Таблица 39: Последовательности антител к TF

Антитело	Домен VH	Домен VL
10H10 (M1593)	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYT FAPYWIEWVRQMPGKGLEWMDILPG TGFTTYSFSFQGHVTISADKSISTAYLQW SSLKASDTAMYCARSGYYGNSGFAY WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:821)	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCKSSQSL LSSGNQKNYLTWYLQKPGQSPQLLIYW ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCQNDYTYPLTFGQGTKLEI K (SEQ ID NO:822)

<b>TF-011</b>	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSNYAMSWVRQAPGKGLEWSSISGSG DYTYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARSPWGYLDSW GQGLTVTVSS (SEQ ID NO:828)	DIQMTQSPSLSASAGDRVITICRASQGI SSRLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:829)
<b>5G9 (гуманизиrow анное TF8- 5G9, CNTO 860)</b>	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGF NIKDYMHVWRQAPGKGLEWIGLIDPE NGNTIYDPKFQGRFTISADNSKNTLFLQ MDSLRPEDTAVYYCARDNSYFYFDYWG QGTPVTVSS (SEQ ID NO:830)	DIQMTQSPSLSASVGDRTITCKASQDI RKYLNWYQQKPGKAPKLLIYYATSLAD GVPSRFSGSGSGTDYFTISSLQPEDIA YYCLQHGESPYTFGQGTKLEIT (SEQ ID NO:831)

**Таблица 41: Последовательности TF свиней**

<b>Вид</b>	<b>Свинья (<i>Sus scrofa</i>)</b>
<b>Полноразмерная последовательность [сигнальная последовательность подчеркнута]</b>	<u>MATPTGPPVSCPKA</u> AVARALLLGWVLVQVAGATGTDDVIV AYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTVQISPRLDGWKNKC FHITDTECDVTDEIMRNVKETYVARVLSYPADTVLTAQEPPF TNSPFTPYLDTNLGQPVIQSFEQVGTKLNVTVAAARTLVRV NGTFLRLRDVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKATTNTNEFLI DVKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTS QEKAVSRE LFLIVGAVVFAVIVFVLVLSVSLYKCRKERAGPSGKENAPLN VA (SEQ ID NO:824)
<b>Внеклеточный домен (ECD)</b>	TGTTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTVQISPRL GDWKNKCFHITDTECDVTDEIMRNVKETYVARVLSYPADT VLTAQEPPFTNSPFTPYLDTNLGQPVIQSFEQVGTKLNVTV AARTLVRVNGTFLRLRDVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKA TTNTNEFLIDVKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTS QEKAVSRE (SEQ ID NO:825)
<b>Последовательность белка TF ECD-His (TF-His)</b>	TGTTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTVQISPRL GDWKNKCFHITDTECDVTDEIMRNVKETYVARVLSYPADT VLTAQEPPFTNSPFTPYLDTNLGQPVIQSFEQVGTKLNVTV AARTLVRVNGTFLRLRDVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKA TTNTNEFLIDVKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTS QEKAVSRETGHHHHHH (SEQ ID NO:826)

Вид	Свинья ( <i>Sus scrofa</i> )
Последовательность слитого белка TF ECD-Fc (TF-Fc)	TGTTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTVQISPRL GDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKETYVARVLSYPADT VLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNLGQPVIQSFEQVGTKLNVTVE AARTLVRVNGTFLRLRDVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKA TTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRRVNQSPESRIECTS QEKAVSRETGENLYFQGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO:827)

Таблица 49: Последовательности TF кролика

Вид	Кролик ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )
Полноразмерная последовательность [сигнальная последовательность подчеркнута]	<u>MAPPTRLQVPRPGTAVPYTVLLGWLLAQVARAADTTGRAY</u> NLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQISTRLENWWSKCFLT AETECDLTDEVVKDVGQTYMARVLSYPARNGNTTGFPEEPP FRNSPEFTPYLDTNLGQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVR RNGTFLSLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKTATTNTNEFL IDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPELTECTSREQGRAR EMFFIIGAVVVVALLIIVLSVTVYKCRKARAGPSGKESSPLNI A (SEQ ID NO:832)
Внеклеточный домен (ECD)	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQISTRLEN WWSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTYMARVLSYPARNGN TTGFPEEPPFRNSPEFTPYLDTNLGQPTIQSFEQVGTKLNVTV QDARTLVRNGTFLSLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKT ATTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPELTECT SREQGRAREM (SEQ ID NO:833)
Последовательность белка TF ECD-His (TF-His)	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQISTRLEN WWSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTYMARVLSYPARNGN TTGFPEEPPFRNSPEFTPYLDTNLGQPTIQSFEQVGTKLNVTV QDARTLVRNGTFLSLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKT ATTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPELTECT SREQGRAREMTGHHHHHH (SEQ ID NO:834)

Вид	Кролик ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )
Последовательность слитого белка TF ECD-Fc (TF-Fc)	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQISTRLEN WKSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTYMARVLSYPARNGN TTGFPEEPPFRNSPEFTPYLDTNLGQPTIQSFEQVGTKLNVTV QDARTLVRRNGTFLSLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKT ATTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPELTECT SREQGRAREMENLYFQGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:835)

Таблица 56: Последовательности ECD TF крысы и ECD химерных конструкций

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)
rTF (TF крысы)	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWKYKC TGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGE EPPFTNARKFLPYRDTKIGQPVIQKYEQGGTKLKVTKDSFTLVKNG TFLTLRQVFGNDLGYILTYRKDSSTGRKTNTHTNEFLIDVEKGVSYCF FAQAVIFSRKTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:838)
h1-107_r	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWKYKC TGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGE EPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNN TFLSLRDVFGKDLIYTYLWYKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYC FSVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:839)
h1-77_r	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWKYKC TGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSYPAGNVESTGSAGEPLYENS PEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDV FGKDLIYTYLWYKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIP SRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:840)

<b>Крысиная/химерная конструкция</b>	<b>Последовательность внеклеточного домена (ECD)</b>
<b>h1-38_r</b>	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISTKSGDWKSKC FYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENS PEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDV FGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIP SRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:841)
<b>h39-77_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPNQVYTVQISDRSRNWKY KCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSYPAGNVESTGSAGEPLY ENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSL RDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQ AVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:842)
<b>h78-107_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVPWRNSTHGTHGEEPPFT NARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSL RDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQ AVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:843)
<b>h78-107_r.v2</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVPWRNSTHGKETLFGTH GEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRR NNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGEN YCFSVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:844)
<b>h78-93_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVPWRNSTHGKETLFGTH GEEPPYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRN NTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENY CFSVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:845)
<b>h94-107_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLFT NARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSL RDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQ AVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:846)

<b>Крысиная/химерная конструкция</b>	<b>Последовательность внеклеточного домена (ECD)</b>
<b>h108-219_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRKNGFTLTLR QVFGNDLGYILTYRKDSSTGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAV IFSRKTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:847)
<b>h108-158_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRKNGFTLTLR QVFGNDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAV IPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:848)
<b>h108-132_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:849)
<b>h133-158_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRKNGFTLTLR QVFGNDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAV IPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:850)
<b>h133-145_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRKNGFTLTLR QVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:851)
<b>h133-139_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRKNGFTLTLR DVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:852)

<b>Крысиная/химерная конструкция</b>	<b>Последовательность внеклеточного домена (ECD)</b>
<b>h140-145_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLTLR QVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:853)
<b>h146-158_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGNDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAV IPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:854)
<b>h146-151_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGNDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:855)
<b>h152-158_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAV IPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:856)
<b>h159-219_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKDSSSTGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAV IFSRKTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:857)
<b>h159-189_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKDSSSTGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAV IPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:858)

<b>Крысиная/химерная конструкция</b>	<b>Последовательность внеклеточного домена (ECD)</b>
<b>h159-174_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKDSSSTGRKTNTTHTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:859)
<b>h159-166_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKDSSSTGRKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:860)
<b>h167-174_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTNTTHTNEFLIDVDKGENYCFSVQAV IPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:861)
<b>h175-189_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAV IPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:862)
<b>h190-219_r</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIFSRKTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:863)
<b>hTF_K68N</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVNQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:865)

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)
<b>hTF_K149N</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGNDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSRVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:866)
<b>hTF_N171H_T197K</b>	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKS KCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYE NSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTHTNEFLIDVDKGENYCFSVQA VIPSRKVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:867)
<b>r141-194_h</b>	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWYKCYC TGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGE EPPFTNARKFLPYRDTKIGQPVIQKYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRRNN TFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYC FSVQAVIFSRKTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:864)

**Таблица 57: Консенсусная последовательности варибельной области**

Группа	Консенсусные последовательности домена VH (SEQ ID NO)	Консенсусные последовательности домена VL (SEQ ID NO)
Группа 25A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FDx[V/A]YGISWVRQAPGQGLEWMGWIAP Yx[N/S]GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTST AYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYS PF GYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:868)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx [Q/E]SIx[S/N]x[S/N]WLAWYQQKPGKAPKL LIYKAx[S/Y]x[S/N]LEx[S/Y]GVPSRFSGSGS GTEFTLTISSLQPDDFATYYCQx[Q/L]FQx[S /K]LPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:869)
Группа 25G	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FRSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAPYx[ N/S]GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAY MELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYS PYGY GMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:870)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx [Q/H]SIx[S/D]SWLAWYQQKPGKAPKLLIY x[K/S]ASx[S/Y]LESGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPDDFATYYCQx[Q/L/R]FQSLPPFTF GGGKVEIK (SEQ ID NO:871)

**Таблица 58: Консенсусные последовательности CDR**

Группа антител	Группа 25A	Группа 25G
<i>CDR1 VH</i>	GYTFDx[V/A]YGIS	GYTFRSYGIS (SEQ ID NO:878)

<b>Посл. CDR VH*</b>		(SEQ ID NO:872)	
	<i>CDR2 VH</i>	WIAPYx[N/S]GNTNYAQLQG (SEQ ID NO:873)	WVAPYx[N/S]GNTNYAQLQG (SEQ ID NO:879)
	<i>CDR3 VH</i>	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID NO:874)	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID NO:880)
<b>Посл. CDR VL*</b>	<i>CDR1 VL</i>	x[R/Q]ASx[Q/E]SIx[S/N]x[S/N]WLA (SEQ ID NO:875)	x[R/Q]ASx[Q/H]SIx[S/D]SWLA (SEQ ID NO:881)
	<i>CDR2 VL</i>	KAx[S/Y]x[S/N]LEx[S/Y] (SEQ ID NO:876)	x[K/S]ASx[S/Y]LES (SEQ ID NO:882)
	<i>CDR3 VL</i>	Qx[Q/L]FQx[S/K]LPPFT (SEQ ID NO:877)	Qx[Q/L/R]FQSLPPFT (SEQ ID NO:883)

\*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело человека, которое связывается с внеклеточным доменом тканевого фактора человека (TF), причем антитело связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека.
2. Выделенное антитело человека по п. 0, причем
  - (1) выделенное антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA – англ.: thrombin generation assay), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность VH SEQ ID NO:821 и последовательность VL SEQ ID NO:822, и при этом
  - (2) связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.
3. Выделенное антитело человека по п. 0 или 2, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:779; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:780; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:781; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:782; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:783, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:784.
4. Выделенное антитело человека по любому из пп. 0-3, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:872; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:873; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:874; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:875; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:876, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:877.
5. Выделенное антитело человека по любому из пп. 0-3, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:878; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:879; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:880; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:881; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:882, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:883.
6. Выделенное антитело человека по п. 0, причем выделенное антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность VH SEQ ID NO:821 и последовательность VL SEQ ID NO:822.
7. Выделенное антитело человека по п. 0, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA).
8. Выделенное антитело человека по п. 7, причем антитело не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем.

9. Выделенное антитело человека по п. 7 или 8, причем антитело не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем.
10. Выделенное антитело человека по любому из пп. 7-9, причем антитело не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP - endogenous thrombin potential), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем.
11. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA).
12. Выделенное антитело человека по п. 11, причем антитело поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем.
13. Выделенное антитело человека по п. 11 или 12, причем антитело поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем.
14. Выделенное антитело человека по любому из пп. 11-13, причем антитело сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем.
15. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека.
16. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa.
17. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.
18. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.
19. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.
20. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем, не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади

под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем, поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

21. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

22. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

23. Выделенное антитело человека по п. 22, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N.

24. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

25. Выделенное антитело человека по п. 24, причем мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N.

26. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, , причем связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

27. Выделенное антитело человека по п. 26, причем мутация в аминокислотном остатке 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой N171H и T197K.

28. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.



значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

35. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

36. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

37. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO : 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности,

представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

38. Выделенное антитело человека по п. 37, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

при этом мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N.

39. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-219 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-224 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

40. Выделенное антитело человека по п. 39, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N.

при этом мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N; и

при этом мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

41. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело связывается с TF яванского макака.

42. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело связывается с TF мыши.
43. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело связывается с TF кролика.
44. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело связывается с TF свиньи.
45. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).
46. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:
- (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и
  - (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.
47. Выделенное антитело человека по п. 46, причем мутация в аминокислотном остатке 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой N171H и T197K.
48. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:
- (a) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и
  - (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.
49. Выделенное антитело человека по п. 48, причем мутация в аминокислотном остатке 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой N171H и T197K.
50. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:
- (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
  - (b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным

значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(с) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

51. Выделенное антитело человека по п. 50, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

52. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

(a) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(с) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

53. Выделенное антитело человека по п. 52, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

54. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) связывается с TF яванского макака;

(с) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(d) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

55. Выделенное антитело человека по п. 54, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

56. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

(a) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) связывается с TF яванского макака;

(c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(d) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

57. Выделенное антитело человека по п. 56, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

58. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(c) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

(d) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;

(e) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;

(f) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(g) связывается с TF яванского макака;

(h) связывается с TF мыши; и

(i) связывается с TF кролика.

59. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(c) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(d) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(e) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

(f) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;

(g) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;

(h) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(i) связывается с TF яванского макака;

(j) связывается с TF мыши; и

(k) связывается с TF кролика.

60. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;

(c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;

(d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;

(g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;

- (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;
- (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;
- (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;
- (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;
- (m) связывается с TF яванского макака;
- (n) связывается с TF мыши; и
- (o) связывается с TF кролика.

61. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

- (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (b) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (c) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;
- (d) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;
- (e) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;
- (f) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;
- (g) связывается с TF яванского макака;
- (h) связывается с TF мыши;
- (i) связывается с TF кролика;
- (j) связывается с TF свиньи;

и (k) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

62. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

- (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (b) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (c) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

- (d) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (e) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;
- (f) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;
- (g) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;
- (h) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;
- (i) связывается с TF яванского макака;
- (j) связывается с TF мыши;
- (k) связывается с TF кролика;
- (l) связывается с TF свиньи;
- и (m) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

63. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

- (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;
- (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;
- (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;
- (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;
- (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;
- (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;
- (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;
- (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(m) связывается с TF яванского макака;

(n) связывается с TF мыши;

(o) связывается с TF кролика;

(p) связывается с TF свиньи;

и (q) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

64. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;

(c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;

(d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;

(g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;

(h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

(j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;

(k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;

(l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(m) связывается с TF яванского макака;

(n) связывается с TF мыши;

(o) связывается с TF кролика;

(p) связывается с TF свиньи;

(q) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV);

(r) при этом связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности,



представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(z) при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(aa) при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(bb) при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(cc) при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

65. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;

(c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;

(d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

- (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;
- (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;
- (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;
- (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;
- (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;
- (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;
- (m) связывается с TF яванского макака;
- (n) связывается с TF мыши;
- (o) связывается с TF кролика;
- (p) связывается с TF свиньи;
- (q) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV);
- (r) при этом связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (s) при этом связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K68N последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (t) при этом связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (u) при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным



(bb) при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(cc) при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

66. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A3, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-T, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

67. Выделенное антитело человека по п. 64, причем антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A3, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-T, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

68. Выделенное антитело человека по п. 64, причем антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

69. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A3, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-T, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

70. Выделенное антитело человека по п. 69, причем антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A3, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-T, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

71. Выделенное антитело человека по п. 69, причем антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.







обозначенное 43D, антитело, обозначенное 43D7, антитело, обозначенное 43D8, антитело, обозначенное 43E, или антитело, обозначенное 43Ea.

117. Выделенное антитело человека по любому из предшествующих пунктов, причем антитело состоит из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

118. Выделенное антитело человека по п. 117, причем антитело состоит из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, или антитела, обозначенного 25G9.

119. Выделенное антитело человека по п. 117, причем антитело состоит из: антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

120. Выделенное антитело, содержащее все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5- Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

121. Выделенное антитело по п. 120, причем антитело является человеческим, гуманизированным или химерным.

122. Выделенное антитело по п. 120 или 121, причем три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGT.

123. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 122, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1 или антитела, обозначенного 25G9.

124. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 122, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25A.

125. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 122, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25A3.

126. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 122, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25A5.

127. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 122, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25A5-Т.

128. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 122, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25G.

129. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 122, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25G1.





162. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 122, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:769 и последовательность VL SEQ ID NO:770.
163. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 162, причем антитело включает: антитело, обозначенное 25A, антитело, обозначенное 25A3, антитело, обозначенное 25A5, антитело, обозначенное 25A5-T, антитело, обозначенное 25G, антитело, обозначенное 25G1, антитело, обозначенное 25G9, антитело, обозначенное 43B, антитело, обозначенное 43B1, антитело, обозначенное 43B7, антитело, обозначенное 43D, антитело, обозначенное 43D7, антитело, обозначенное 43D8, антитело, обозначенное 43E, или антитело, обозначенное 43Ea.
164. Выделенное антитело по п. 163, причем антитело включает: антитело, обозначенное 25A, антитело, обозначенное 25A3, антитело, обозначенное 25A5, антитело, обозначенное 25A5-T, антитело, обозначенное 25G, антитело, обозначенное 25G1, или антитело, обозначенное 25G9.
165. Выделенное антитело по п. 163, причем антитело включает: антитело, обозначенное 43B, антитело, обозначенное 43B1, антитело, обозначенное 43B7, антитело, обозначенное 43D, антитело, обозначенное 43D7, антитело, обозначенное 43D8, антитело, обозначенное 43E, или антитело, обозначенное 43Ea.
166. Выделенное антитело по любому из пп. 120 - 163, причем антитело состоит из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-T, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.
167. Выделенное антитело по п. 166, причем антитело состоит из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-T, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, или антитела, обозначенного 25G9.
168. Выделенное антитело по п. 166, причем антитело состоит из: антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.
169. Выделенное антитело человека, которое конкурирует за связывание с TF человека с: антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 1F, антителом, обозначенным 1G, антителом, обозначенным 29D, антителом, обозначенным 29E, антителом, обозначенным 39A, или антителом, обозначенным 54E.
170. Выделенное антитело по п. 169, причем антитело является человеческим, гуманизированным или химерным.
171. Выделенное антитело человека по п. 169 или 170, причем антитело ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.
172. Выделенное антитело по любому из пп. 169 - 171, причем антитело связывается с TF яванского макака.
173. Выделенное антитело по любому из пп. 169 - 172, причем связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным



при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и

при этом связывание между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-85 и 92-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

что определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

179. Выделенное антитело по любому из пп. 169 - 178, содержащее все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 1F, антитела, обозначенного 1G, антитела, обозначенного 29D, антитела, обозначенного 29E, антитела, обозначенного 39A, антитела, обозначенного 43Ea или антитела, обозначенного 54E.

180. Выделенное антитело по п. 179, причем три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGT.

181. Выделенное антитело по п. 179 или 180, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 1F.

182. Выделенное антитело по п. 179 или 180, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 1G.

183. Выделенное антитело по п. 179 или 180, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 29D.

184. Выделенное антитело по п. 179 или 180, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 29E.

185. Выделенное антитело по п. 179 или 180, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 39A.

186. Выделенное антитело по п. 179 или 180, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 54E.

187. Выделенное антитело по любому из пп. 169 - 180, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:37 и последовательность VL SEQ ID NO:38.

188. Выделенное антитело по любому из пп. 169 - 180, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:75 и последовательность VL SEQ ID NO:76.

189. Выделенное антитело по любому из пп. 169 - 180, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:341 и последовательность VL SEQ ID NO:342.

190. Выделенное антитело по любому из пп. 169 - 180, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:379 и последовательность VL SEQ ID NO:380.

191. Выделенное антитело по любому из пп. 169 - 180, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:417 и последовательность VL SEQ ID NO:418.





представленную в SEQ ID NO:881; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:882, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:883.

211. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, причем указанное антитело связывается с TF человека с KD меньшей или равной 50 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 1 нМ, 0,5 нМ или 0,1 нМ, что измерено с помощью Octet QK384 или анализа Biacore.

212. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, причем антитело представляет собой моноклональное антитело.

213. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, причем антитело является мультиспецифичным.

214. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, причем указанное антитело представляет собой Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv, (scFv)<sub>2</sub>, молекулу одноцепочечного антитела, антитело с двумя переменными доменами, антитело с одним переменным доменом, линейное антитело или антитело с V-доменом.

215. Выделенное антитело по любому из предшествующих пунктов, причем указанное антитело содержит каркас, необязательно при этом каркас представляет собой Fc, необязательно Fc человека.

216. Выделенное антитело по п. 215, причем антитело содержит константную область тяжелой цепи класса, выбранного из IgG, IgA, IgD, IgE и IgM.

217. Выделенное антитело по п. 216, причем антитело содержит константную область тяжелой цепи класса IgG и подкласса, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

218. Выделенное антитело по п. 217, причем антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1.

219. Выделенное антитело по любому из пп. 215 - 218, причем Fc содержит одну или более модификаций, при этом одна или более модификаций приводят к увеличению периода полужизни, увеличению антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ), усилению антителозависимого клеточного фагоцитоза (АЗКФ), увеличению комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ), или снижению эффекторной функции по сравнению с Fc без одной или более модификаций.

220. Выделенное антитело, которое конкурирует за связывание с TF человека с антителом по любому из предшествующих пунктов.

221. Выделенное антитело, которое связывает эпитоп TF человека, связанный антителом по любому из предшествующих пунктов.

222. Выделенный полинуклеотид или набор полинуклеотидов, кодирующих антитело по любому из предшествующих пунктов, его VH, его VL, его легкую цепь, его тяжелую цепь или его антигенсвязывающую часть.

223. Вектор или набор векторов, содержащий полинуклеотид или набор полинуклеотидов по п. 222.

224. Клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид или набор полинуклеотидов по п.222, или вектор или набор векторов по п. 223.

225. Способ получения антитела, включающий экспрессию антитела клеткой-хозяином по п. 224 и выделение экспрессированного антитела.

226. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 0 - 221 и фармацевтически приемлемый эксципиент.
227. Способ лечения или профилактики заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества антитела по любому из пп. 0 - 221 или фармацевтической композиции по п. 226.
228. Способ по п. 227, в котором заболевание или патологическое состояние представляет собой рак.
229. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак головы и шеи.
230. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак яичника.
231. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак желудка.
232. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак пищевода.
233. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак шейки матки.
234. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак предстательной железы.
235. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак поджелудочной железы.
236. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы.
237. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой глиобластому.
238. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак легкого.
239. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак мочевого пузыря.
240. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой меланому.
241. Способ по п. 228, в котором рак представляет собой рак почки.
242. Способ по п. 227, в котором заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию.
243. Способ по п. 242, в котором заболевание или патологическое состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), диабетическую ретинопатию или рак.
244. Способ по п. 227, в котором заболевание или патологическое состояние включает васкулярное воспаление.
245. Способ по любому из пп. 227 - 244, дополнительно включающий введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов.
246. Способ по п. 245, в котором дополнительный терапевтический агент находится в составе той же фармацевтической композиции, что и антитело.
247. Способ по п. 245, в котором дополнительный терапевтический агент находится в составе фармацевтической композиции отличной от той, в которой находится антитело.
248. Способ по п. 245, в котором дополнительный терапевтический агент вводят до введения антитела.

249. Способ по п. 245, в котором дополнительный терапевтический агент вводят после введения антитела.
250. Способ по п. 245, в котором дополнительный терапевтический агент вводят одновременно с антителом.
251. Способ обнаружения ТФ у субъекта, имеющего или подозреваемого в наличии заболевания или состояния, включающий: (а) получение образца от субъекта; и (б) обнаружение присутствия или уровня ТФ в образце путем приведения в контакт образца с антителом по любому из пп. 0 - 221.
252. Способ по п. 251, в котором заболевание или патологическое состояние представляет собой рак.
253. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак головы и шеи.
254. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак яичника.
255. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак желудка.
256. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак пищевода.
257. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак шейки матки.
258. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак предстательной железы.
259. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак поджелудочной железы.
260. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы.
261. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой глиобластому.
262. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак легкого.
263. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак мочевого пузыря.
264. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой меланому.
265. Способ по п. 252, в котором рак представляет собой рак почки.
266. Способ по п. 251, в котором заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию.
267. Способ по п. 266, в котором заболевание или патологическое состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), диабетическую ретинопатию или рак.
268. Способ по п. 251, в котором заболевание или патологическое состояние включает васкулярное воспаление.
269. Способ обнаружения ТФ у субъекта, имеющего или подозреваемого в наличии заболевания или патологического состояния, включающий: (а) введение субъекту антитела по любому из пп. 0 - 221; и (б) обнаружение присутствия или уровня ТФ у субъекта.
270. Способ по п. 269, в котором заболевание или патологическое состояние представляет собой рак.

271. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак головы и шеи.
272. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак яичника.
273. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак желудка.
274. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак пищевода.
275. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак шейки матки.
276. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак предстательной железы.
277. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак поджелудочной железы.
278. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы.
279. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой глиобластому.
280. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак легкого.
281. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак мочевого пузыря.
282. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой меланому.
283. Способ по п. 270, в котором рак представляет собой рак почки.
284. Способ по п. 269, в котором заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию.
285. Способ по п. 284, в котором заболевание или патологическое состояние, включающее неоваскуляризацию, представляет собой возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD), диабетическую ретинопатию или рак.
286. Способ по п. 269, в котором заболевание или патологическое состояние включает васкулярное воспаление.
287. Набор, содержащий антитело по любому из пп. 0 - 221 или фармацевтическую композицию по п. 226 и инструкцию по применению.
288. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и, необязательно, линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело связывается с внеклеточным доменом тканевого фактора человека (TF) в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FVIIa человека.
289. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 288, причем
- (1) антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность VH SEQ ID NO:821 и последовательность VL SEQ ID NO:822, и при этом
  - (2) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным

значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

290. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 288 или 289, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:779; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:780; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:781; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:782; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:783, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:784.

291. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288-290, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:872; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:873; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:874; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:875; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:876, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:877.

292. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288-290, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:878; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:879; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:880; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:881; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:882, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:883.

293. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 288, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность VH SEQ ID NO:821 и последовательность VL SEQ ID NO:822.

294. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 288, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA).

295. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 294, причем антитело не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем.

296. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 294 или 295, причем антитело не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем.

297. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 294-296, причем антитело не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем.

298. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 297, причем антитело обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA).

299. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 298, причем антитело поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем.

300. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 298 или 299, причем антитело поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем.

301. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 298-300, причем антитело сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем.

302. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 301, причем антитело связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека.

303. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 302, причем антитело не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa.

304. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 303, причем антитело не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

305. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 304, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

306. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 305, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

307. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 306, причем антитело не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем, не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA), поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем, поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

308. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 307, причем антитело ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

309. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 308, причем связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным

значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

310. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 309, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N.

311. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 310, причем связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

312. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 311, причем мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N.

313. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 312, причем связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

314. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 313, причем мутация в аминокислотном остатке 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой N171H и T197K.

315. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 314, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

316. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 315, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

317. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 316, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.



составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

при этом связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

325. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 324, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

при этом мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N.

326. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 325, причем связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,



при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, и

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

327. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 326, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N;

при этом мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N; и

при этом мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

328. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 327, причем антитело связывается с TF яванского макака.

329. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 328, причем антитело связывается с TF мыши.

330. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 329, причем антитело связывается с TF кролика.

331. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 330, причем антитело связывается с TF свиньи.

332. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 331, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и

(b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

333. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 332, причем мутация в аминокислотном остатке 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой N171H и T197K.

334. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 333, причем антитело:

(a) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA); и

(b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

335. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 334, причем мутация в аминокислотном остатке 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой N171H и T197K.

336. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 335, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

337. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 336, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

338. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 337, причем антитело:

(a) допускает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным

значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

339. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 338, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

340. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 339, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) связывается с TF яванского макака;

(c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(d) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

341. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 340, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

342. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 341, причем антитело:

(a) допускает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) связывается с TF яванского макака;

(c) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(d) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным

значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

343. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 342, причем мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N; и

мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляют собой N171H и T197K.

344. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 343, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) допускает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA);

(c) связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

(d) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;

(e) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;

(f) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(g) связывается с TF яванского макака;

(h) связывается с TF мыши; и

(i) связывается с TF кролика.

345. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 344, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(c) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(d) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(e) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

(f) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;

(g) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;

(h) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(i) связывается с TF яванского макака;

(j) связывается с TF мыши; и

(k) связывается с TF кролика.

346. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 345, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;

(c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;

(d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;

(g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;

(h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

(j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;

(k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;

(l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(m) связывается с TF яванского макака;

(n) связывается с TF мыши; и

(o) связывается с TF кролика.

347. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 346, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(c) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

(d) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;

(e) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;

(f) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(g) связывается с TF яванского макака;

(h) связывается с TF мыши;

(i) связывается с TF кролика;

и (j) связывается с TF свиньи;

348. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 347, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(c) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(d) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

(e) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

(f) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;

(g) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;

(h) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;

(i) связывается с TF яванского макака;

(j) связывается с TF мыши;

(k) связывается с TF кролика;

и (l) связывается с TF свиньи.

349. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 348, причем антитело:

(a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);

(b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;

(c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;

(d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;

- (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;
- (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;
- (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;
- (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;
- (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;
- (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;
- (m) связывается с TF яванского макака;
- (n) связывается с TF мыши;
- (o) связывается с TF кролика;
- и (p) связывается с TF свиньи.

350. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 349, причем антитело:

- (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;
- (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;
- (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;
- (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;
- (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;

- (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;
- (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;
- (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;
- (m) связывается с TF яванского макака;
- (n) связывается с TF мыши;
- (o) связывается с TF кролика;
- (p) связывается с TF свиньи;
- (q) при этом связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (r) при этом связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (s) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (t) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (u) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (v) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(w) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(x) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-219 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-224 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(y) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(z) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(aa) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(bb) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

351. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 350, причем антитело:

- (a) не ингибирует образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (b) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;
- (c) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;
- (d) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (e) обеспечивает образование тромбина человека, что определено анализом образования тромбина (TGA);
- (f) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем;
- (g) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем;
- (h) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), что определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем;
- (i) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека;
- (j) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa;
- (k) не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека;
- (l) ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF;
- (m) связывается с TF яванского макака;
- (n) связывается с TF мыши;
- (o) связывается с TF кролика;
- (p) связывается с TF свиньи;
- (q) при этом связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (r) при этом связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K68N последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;
- (s) при этом связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным



связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(aa) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и

(bb) при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, внеклеточного домена TF человека, составляет более 50 % связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

352. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 351, причем антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25А, антителом, обозначенным 25А3, антителом, обозначенным 25А5, антителом, обозначенным 25А5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43В, антителом, обозначенным 43В1, антителом, обозначенным 43В7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43Е, или антителом, обозначенным 43Еа.

353. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 352, причем антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25А, антителом, обозначенным 25А3, антителом, обозначенным 25А5, антителом, обозначенным 25А5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

354. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 352, причем антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 43В, антителом, обозначенным 43В1, антителом, обозначенным 43В7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43Е, или антителом, обозначенным 43Еа.

355. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 354, причем антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 25А, антителом, обозначенным 25А3, антителом, обозначенным 25А5, антителом, обозначенным 25А5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43В, антителом, обозначенным 43В1, антителом, обозначенным 43В7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43Е, или антителом, обозначенным 43Еа.

356. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 355, причем антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 25А, антителом, обозначенным 25А3, антителом, обозначенным 25А5, антителом, обозначенным 25А5-Т, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

357. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 355, причем антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связывается антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

358. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 357, причем антитело содержит все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5- T, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

359. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358, причем три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGТ.

360. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A3, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-Т, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1 или антитела, обозначенного 25G9.

361. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

362. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25A.

363. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25A3.

364. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25A5.

365. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25A5-Т.

366. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25G.

367. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25G1.

368. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 358 или 359, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 25G9.







406. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 405, причем присутствие FVIIa не влияет на активность конъюгата антитело-лекарственное средство по сравнению с отсутствием FVIIa.

407. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 406, причем присутствие FVIIa поддерживает активность конъюгата антитело-лекарственное средство по сравнению с отсутствием FVIIa.

408. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, при этом антитело конкурирует за связывание с TF человека с: антителом, обозначенным 1F, антителом, обозначенным 1G, антителом, обозначенным 29D, антителом, обозначенным 29E, антителом, обозначенным 39A, или антителом, обозначенным 54E.

409. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 408, причем антитело ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

410. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 408 или 409, причем антитело связывается с TF яванского макака.

411. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 408 или 410, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

412. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 408 или 410, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-93 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-98 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

413. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 408 или 410, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

414. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 408 или 410, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-85 и 92-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

415. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 408 или 410, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-93 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-98 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

416. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 408 или 410, причем связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810;

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и

при этом связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 78-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 77-85 и 92-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 внеклеточного домена TF крысы, составляет более 50 % связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810,

что определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

417. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 408 - 416, причем антитело содержит все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 1F, антитела, обозначенного 1G, антитела, обозначенного 29D, антитела, обозначенного 29E, антитела, обозначенного 39A, антитела, обозначенного 43Ea или антитела, обозначенного 54E.

418. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 417, причем три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGT.

419. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 417 или 418, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 1F.

420. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 417 или 418, причем антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи антитела, обозначенного 1G.



последовательность, представленную в SEQ ID NO:795, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:796.

434. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 408-418, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:803; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:804; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:805; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:806; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:807, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:808.

435. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 408 - 418, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:761 и последовательность VL SEQ ID NO:762.

436. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 408 - 418, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:765 и последовательность VL SEQ ID NO:766.

437. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 408 - 418, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:767 и последовательность VL SEQ ID NO:768.

438. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 408 - 418, причем антитело содержит последовательность VH SEQ ID NO:771 и последовательность VL SEQ ID NO:772.

439. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 408 - 438, причем антитело включает: антитело, обозначенное 1F, антитело, обозначенное 1G, антитело, обозначенное 29D, антитело, обозначенное 29E, антитело, обозначенное 39A, или антитело, обозначенное 54E.

440. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 408 - 439, причем антитело состоит из: антитела, обозначенного 1F, антитела, обозначенного 1G, антитела, обозначенного 29D, антитела, обозначенного 29E, антитела, обозначенного 39A, или антитела, обозначенного 54E.

441. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:773; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:774; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:775; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:776; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:777, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:778.

442. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело к тканевому фактору человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:779; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:780; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:781; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:782; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:783, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:784.



- последовательность, представленную в SEQ ID NO:882, и VL-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:883.
449. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 448, причем антитело является человеческим, гуманизированным или химерным.
450. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 449, причем указанное антитело связывается с TF человека с KD меньшей или равной 50 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 1 нМ, 0,5 нМ или 0,1 нМ, что измерено с помощью Octet QK384 или анализа Biacore.
451. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 449, причем антитело представляет собой моноклональное антитело.
452. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 451, причем антитело является мультиспецифичным.
453. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 452, причем указанное антитело представляет собой Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv, (scFv)<sub>2</sub>, молекулу одноцепочечного антитела, антитело с двумя переменными доменами, антитело с одним переменным доменом, линейное антитело или антитело с V-доменом.
454. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 453, причем указанное антитело содержит каркас, необязательно при этом каркас представляет собой Fc, необязательно Fc человека.
455. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 454, причем антитело содержит константную область тяжелой цепи класса, выбранного из IgG, IgA, IgD, IgE и IgM.
456. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 455, причем антитело содержит константную область тяжелой цепи класса IgG и подкласса, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.
457. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 456, причем антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1.
458. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 454 - 457, причем Fc содержит одну или более модификаций, при этом одна или более модификаций приводят к увеличению периода полужизни, увеличению антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ), усилению антителозависимого клеточного фагоцитоза (АЗКФ), увеличению комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ), или снижению эффекторной функции по сравнению с Fc без одной или более модификаций.
459. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело против тканевого фактора человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом по любому из пунктов 288 - 458.
460. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий: антитело против тканевого фактора человека (анти-hTF), цитотоксический агент, связанный с антителом, и необязательно линкер, который связывает антитело с цитотоксическим агентом, причем антитело связывает эпитоп TF человека, связанный антителом по любому из пунктов 288 - 459.
461. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 460, причем цитотоксический агент включает антиангиогенный агент, проапоптотический агент, антимиотический агент, антикиназный агент, алкилирующий агент, гормон, агонист гормона,

антагонист гормона, хемокин, лекарственное средство, пролекарство, токсин, фермент, антиметаболит, антибиотик, алкалоид или радиоактивный изотоп.

462. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 461, причем цитотоксический агент включает, по меньшей мере, одно из: калихеамицин, камптотецин, карбоплатин, иринотекан, SN-38, карбоплатин, камптотекан, циклофосфамид, цитарабин, дакарбазин, доцетаксел, дактиномицин, даунорубицин, доксорубицин, эдоксорубицин, от доксорубицина, от доксорубицина, майтансиноид, аналог майтансиноида, пирролобензодиазепин, таксоид, дуокармицин, доластатин и ауристатин.

463. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 462, причем линкер включает лабильный линкер, кислотолабильный линкер, фотولاбильный линкер, заряженный линкер, дисульфидсодержащий линкер, чувствительный к пептидазе линкер,  $\beta$ -глюкуронидный линкер, диметилловый линкер, тиозфирный линкер или гидрофильный линкер.

464. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 463, причем линкер представляет собой расщепляемый линкер.

465. Конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 463, причем линкер представляет собой нерасщепляемый линкер.

466. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 465 и фармацевтически приемлемый эксципиент.

467. Способ лечения или профилактики заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 465 или фармацевтической композиции по п. 466.

468. Способ по п. 467, в котором заболевание или патологическое состояние представляет собой рак.

469. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак головы и шеи.

470. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак яичника.

471. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак желудка.

472. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак пищевода.

473. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак шейки матки.

474. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак предстательной железы.

475. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак поджелудочной железы.

476. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы.

477. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой глиобластому.

478. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак легкого.

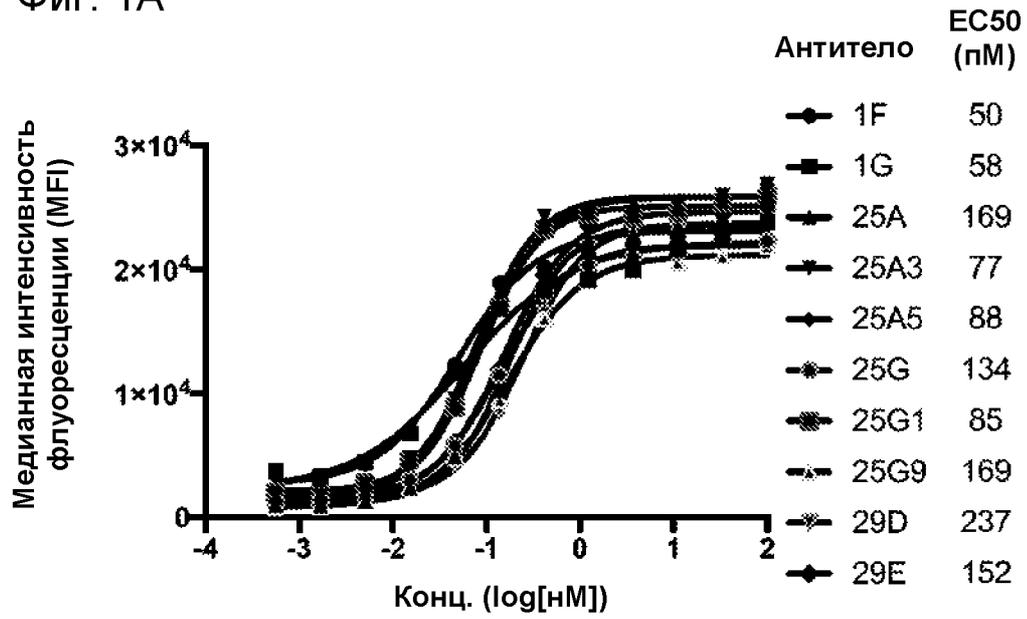
479. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак мочевого пузыря.

480. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой меланому.

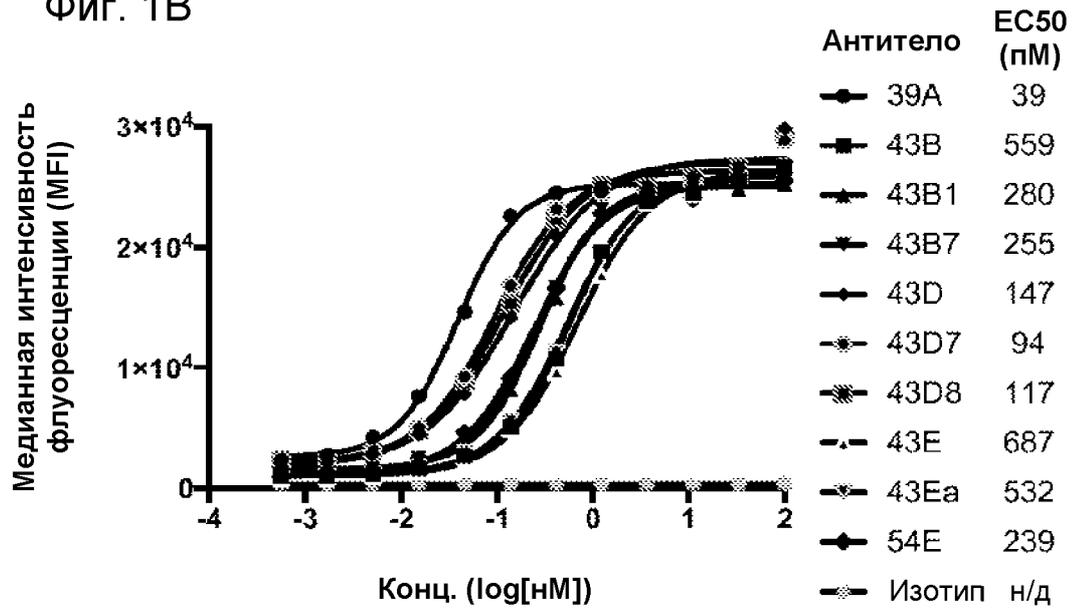
481. Способ по п. 468, в котором рак представляет собой рак почки.

482. Способ по любому из пп. 467 - 481, дополнительно включающий введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов.
483. Способ по п. 482, в котором дополнительный терапевтический агент находится в составе той же фармацевтической композиции, что и конъюгат антитело-лекарственное средство.
484. Способ по п. 482, в котором дополнительный терапевтический агент находится в составе фармацевтической композиции отличной от той, в которой находится конъюгат антитело-лекарственное средство.
485. Способ по п. 482, в котором дополнительный терапевтический агент вводят до введения конъюгата антитело-лекарственное средство.
486. Способ по п. 482, в котором дополнительный терапевтический агент вводят после введения конъюгата антитело-лекарственное средство.
487. Способ по п. 482, в котором дополнительный терапевтический агент вводят одновременно с конъюгатом антитело-лекарственное средство.
488. Способ обнаружения ТФ у субъекта, имеющего или подозреваемого в наличии заболевания или патологического состояния, включающий: (а) введение субъекту конъюгата антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 465; и (б) обнаружение присутствия или уровня ТФ у субъекта.
489. Способ по п. 488, в котором заболевание или патологическое состояние представляет собой рак.
490. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак головы и шеи.
491. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак яичника.
492. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак желудка.
493. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак пищевода.
494. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак шейки матки.
495. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак предстательной железы.
496. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак поджелудочной железы.
497. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой негативный по рецептору эстрогена (ER-), негативный по рецептору прогестерона (PR-) и негативный по HER2 (HER2-) тройной негативный рак молочной железы.
498. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой глиобластому.
499. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак легкого.
500. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак мочевого пузыря.
501. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой меланому.
502. Способ по п. 489, в котором рак представляет собой рак почки.
503. Набор, содержащий конъюгат антитело-лекарственное средство по любому из пп. 288 - 465 или фармацевтическую композицию по п. 466 и инструкцию по применению.

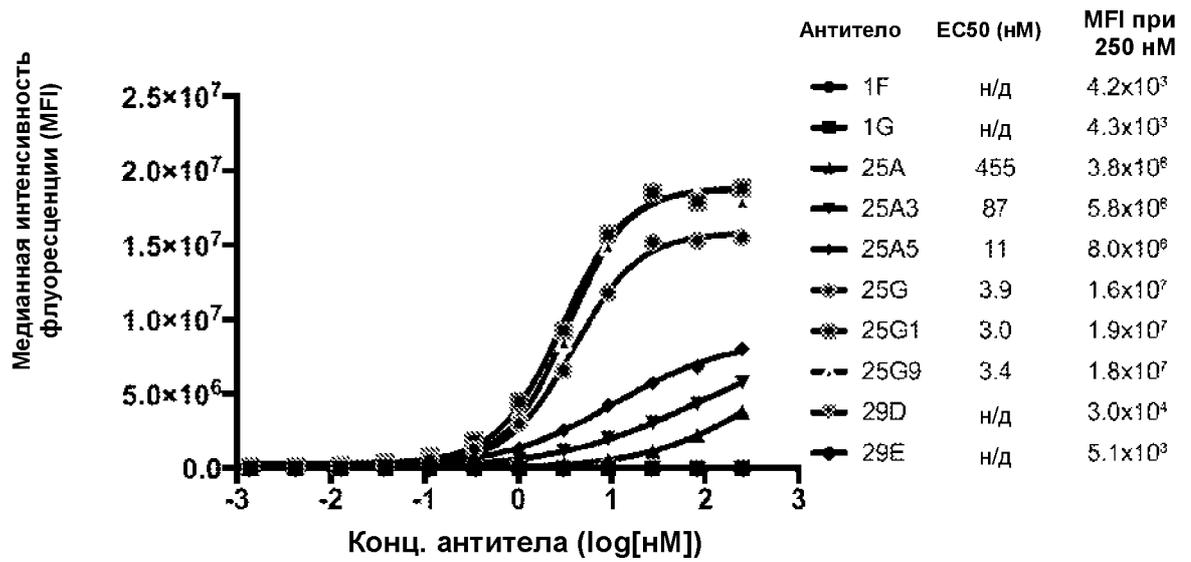
Фиг. 1А



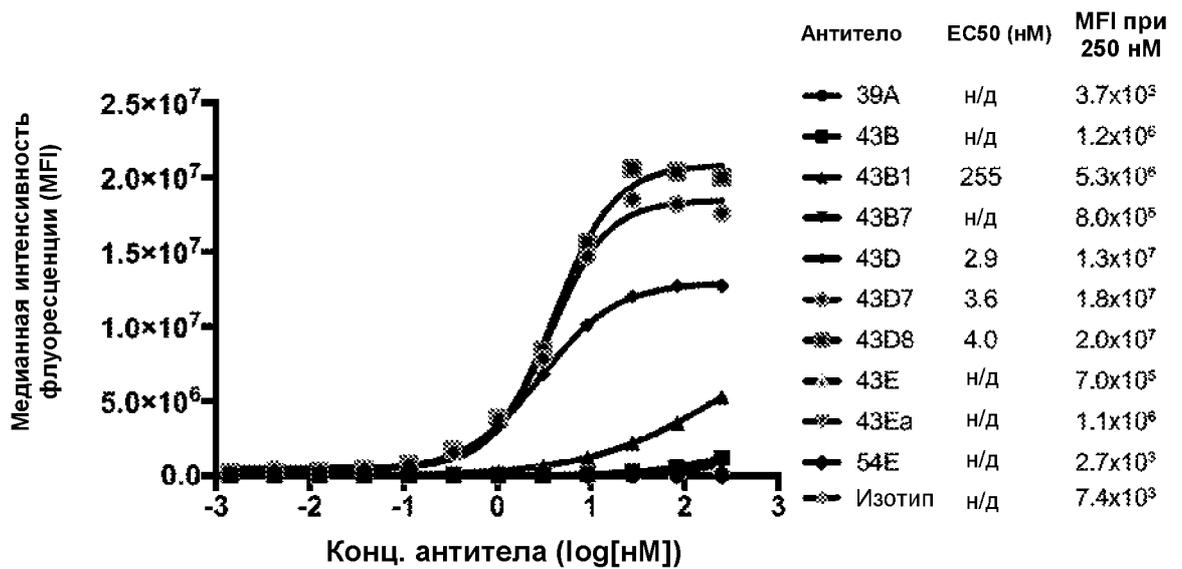
Фиг. 1В



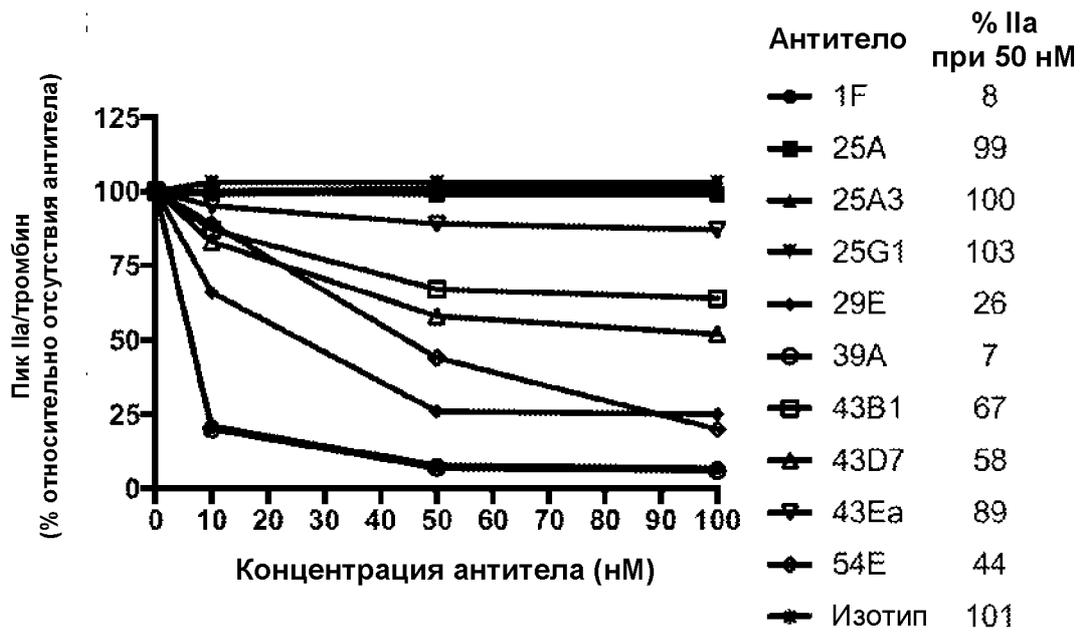
Фиг. 2А



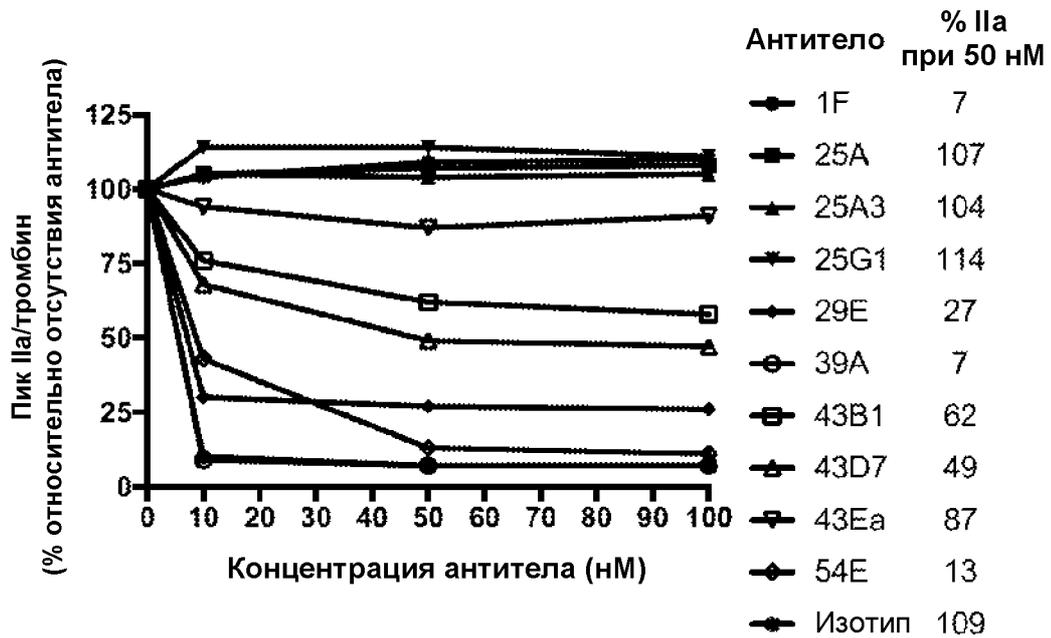
Фиг. 2В



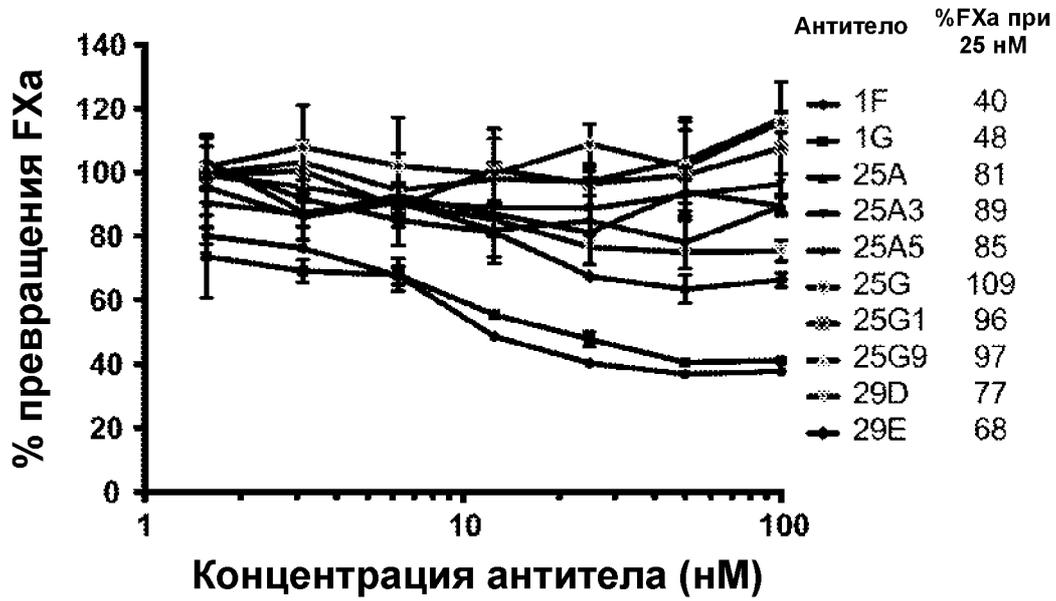
Фиг. 3А



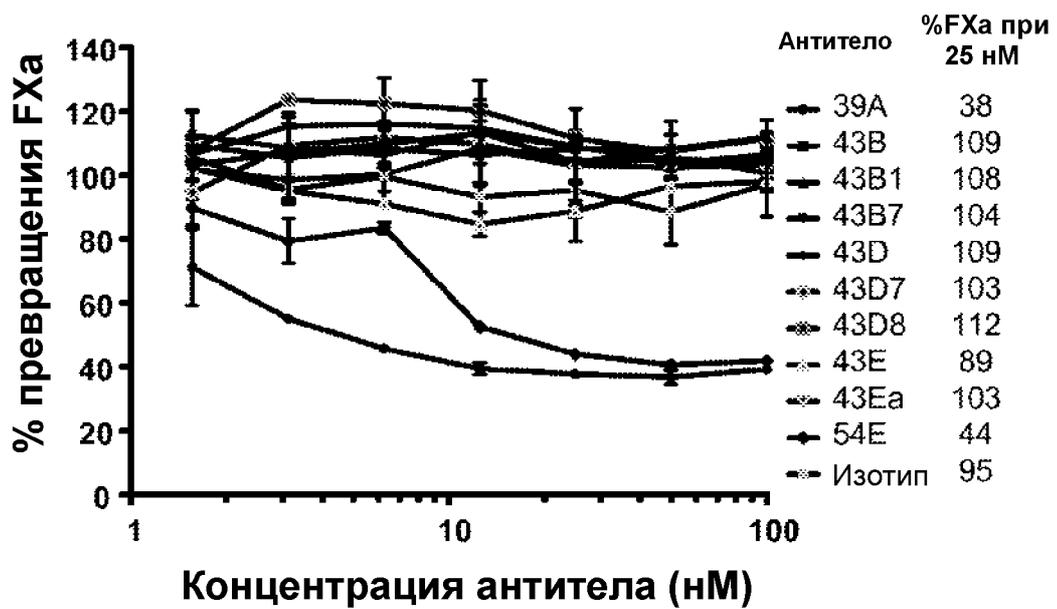
Фиг. 3В



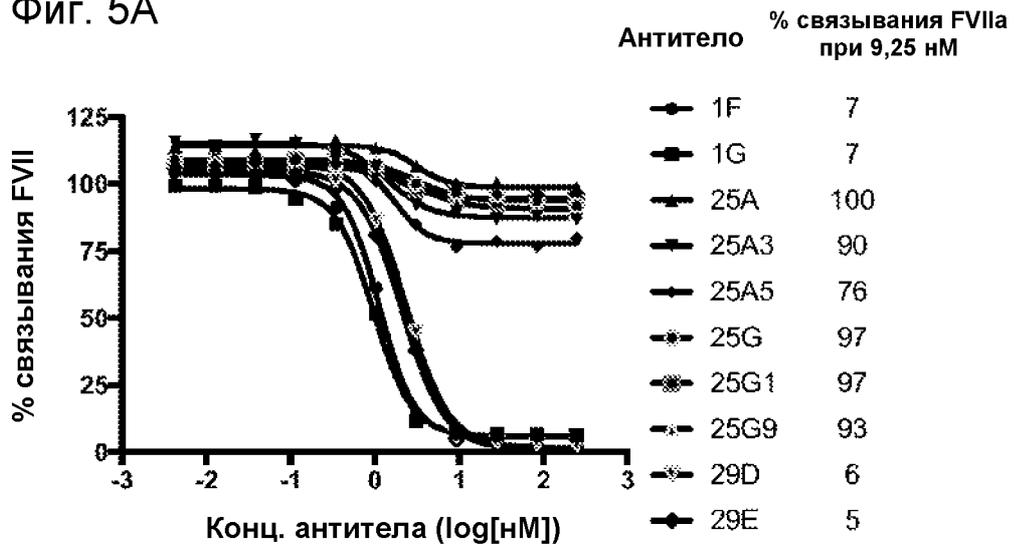
Фиг. 4А



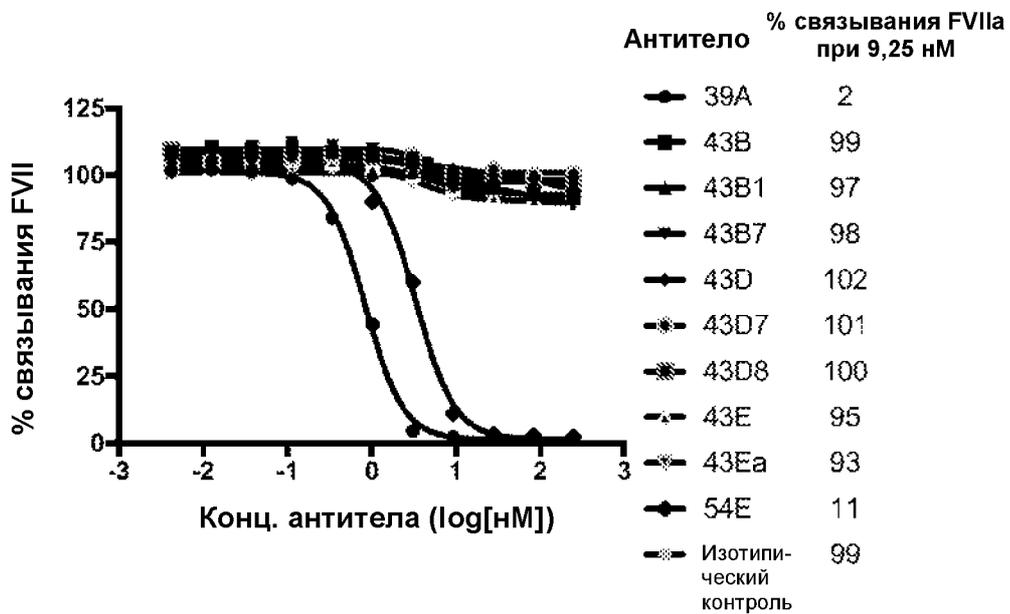
Фиг. 4В



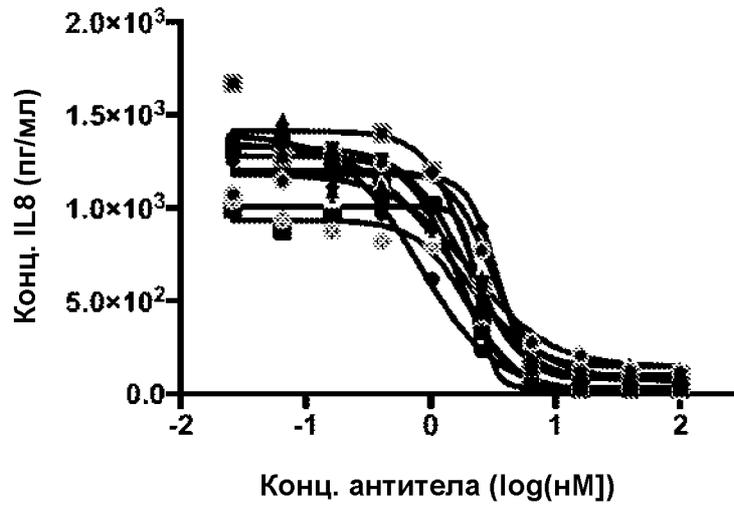
Фиг. 5А



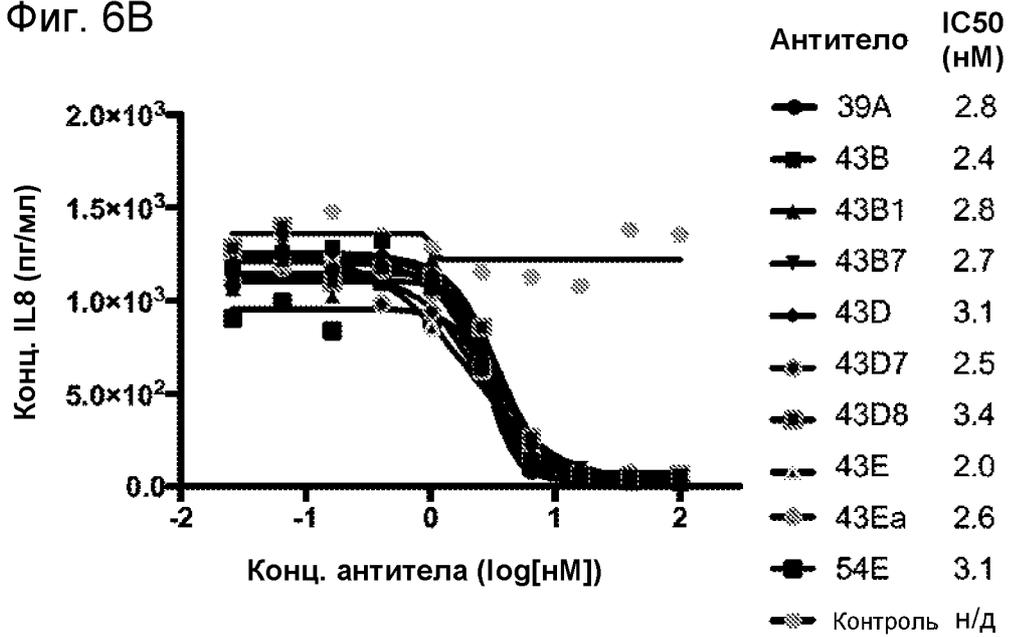
Фиг. 5В



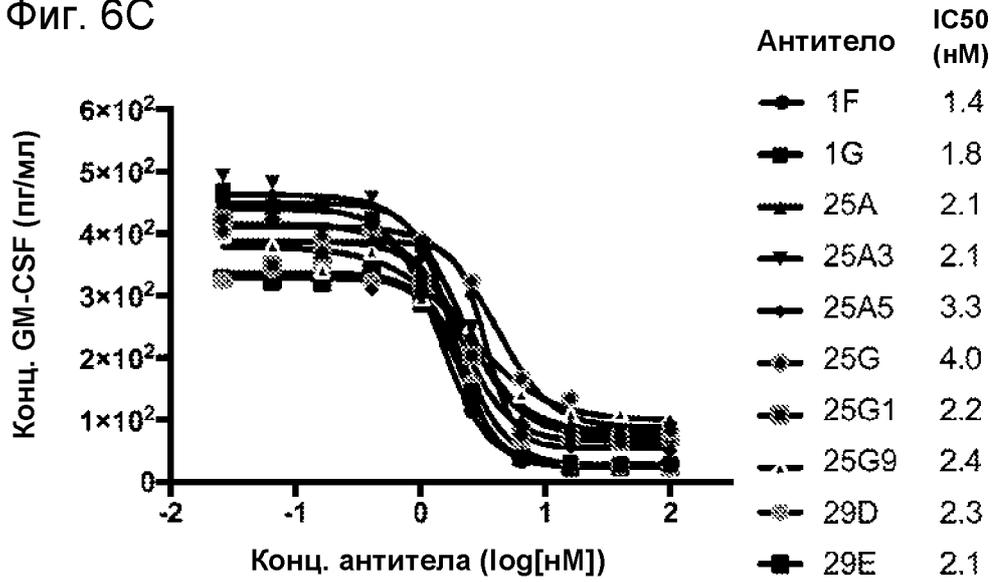
Фиг. 6А



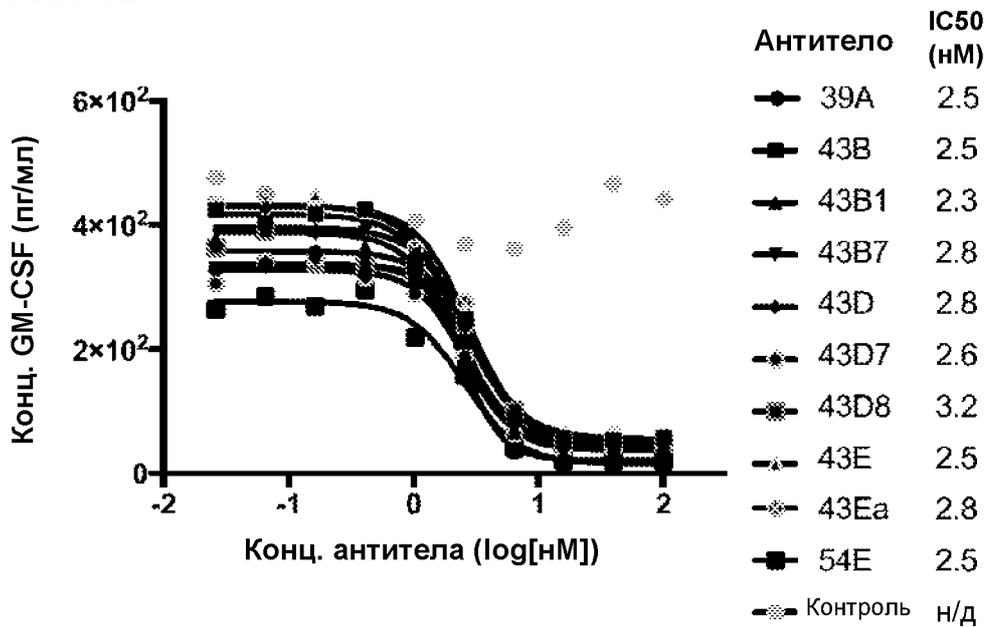
Фиг. 6В



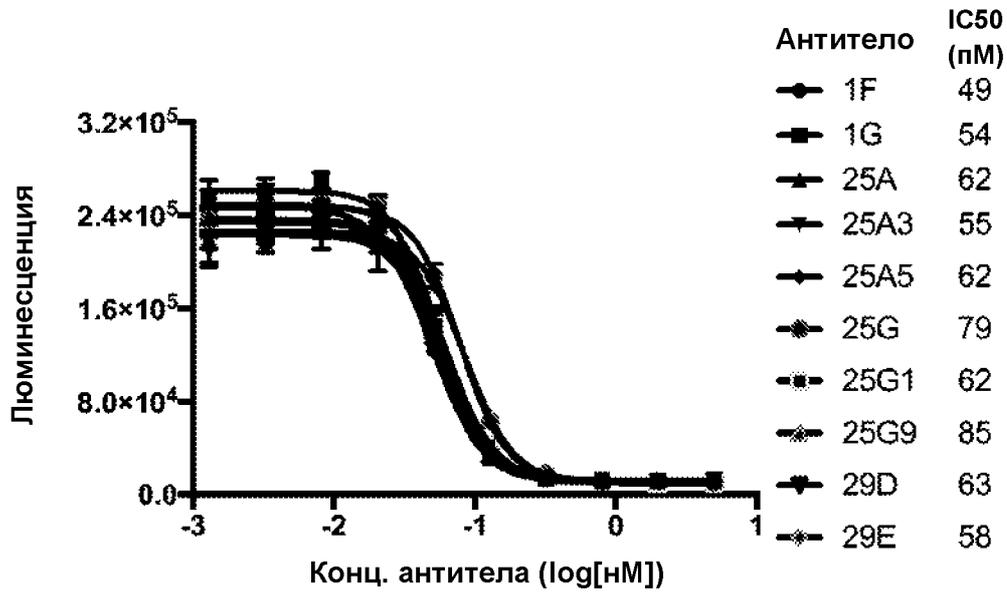
Фиг. 6С



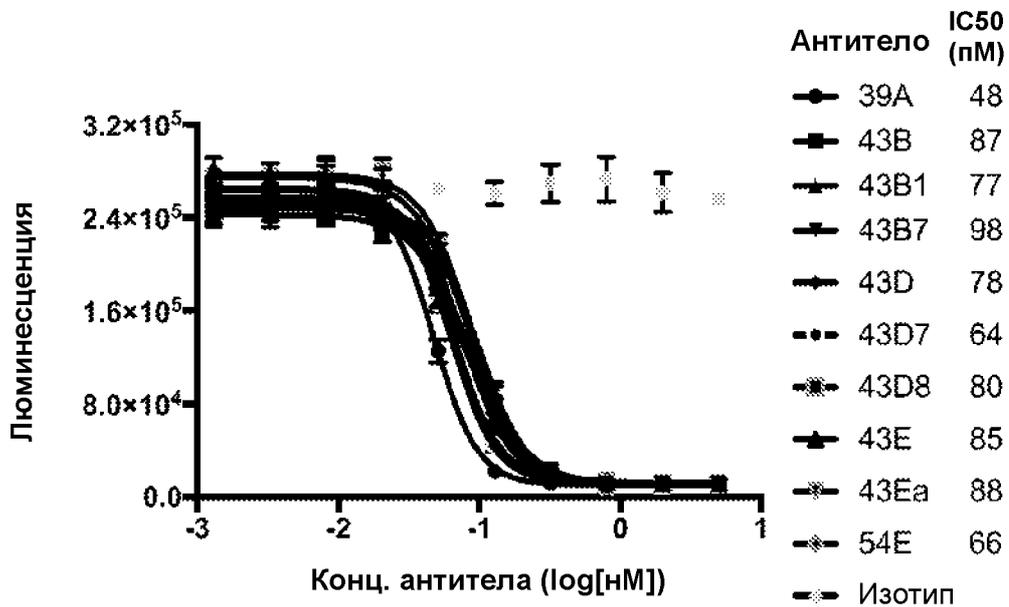
Фиг. 6D



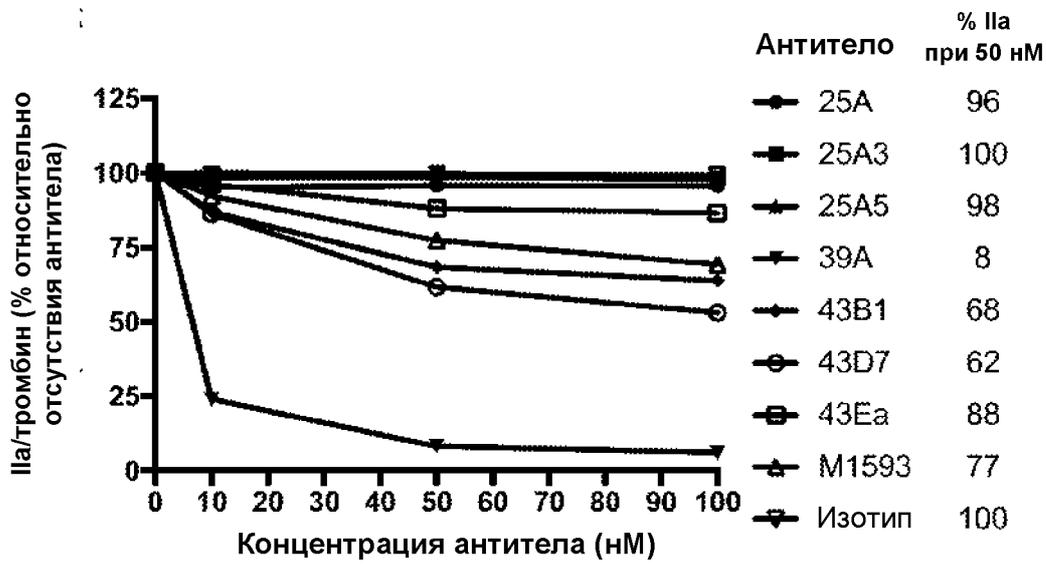
Фиг. 7А



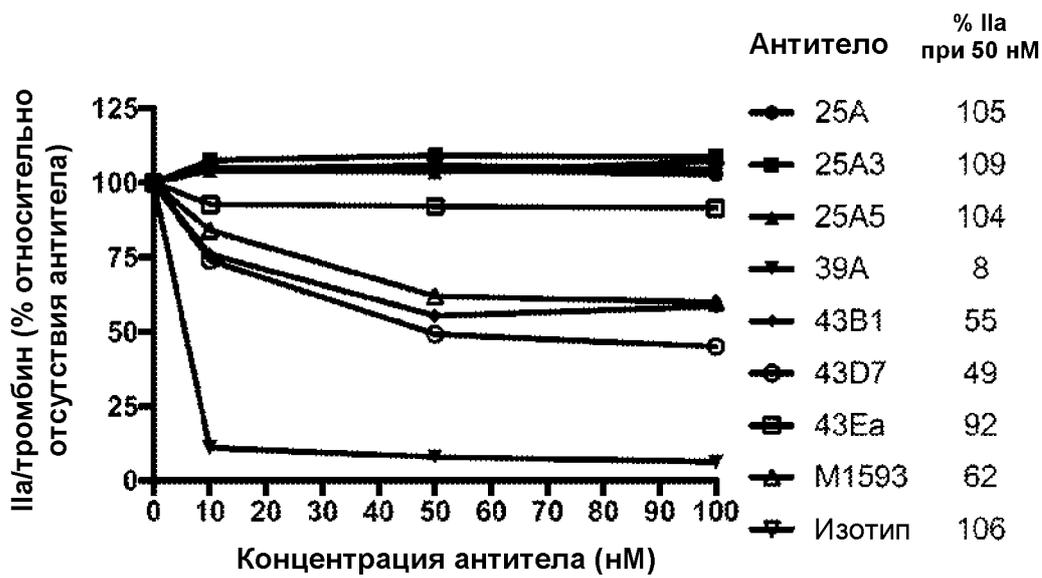
Фиг. 7В



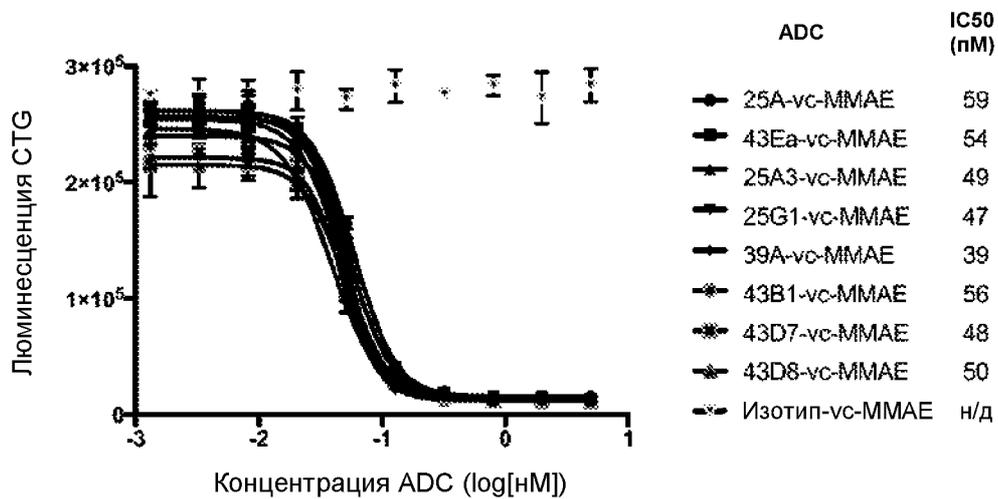
Фиг. 8А



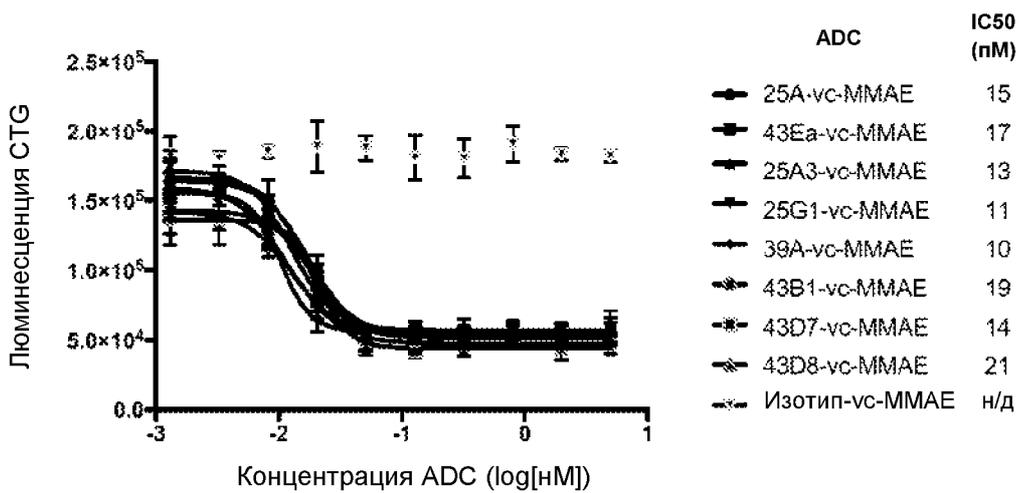
Фиг. 8В



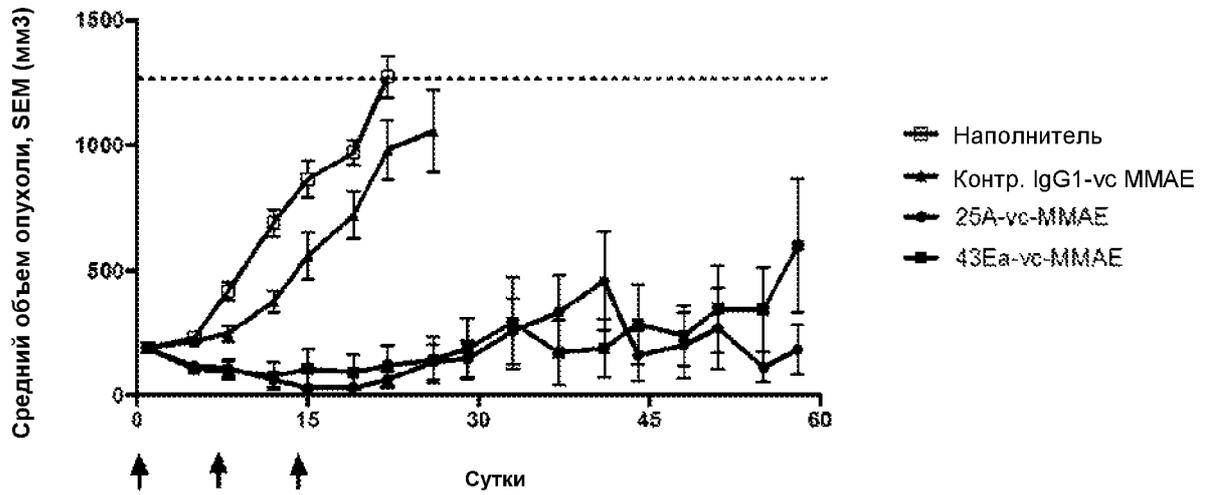
Фиг. 9А



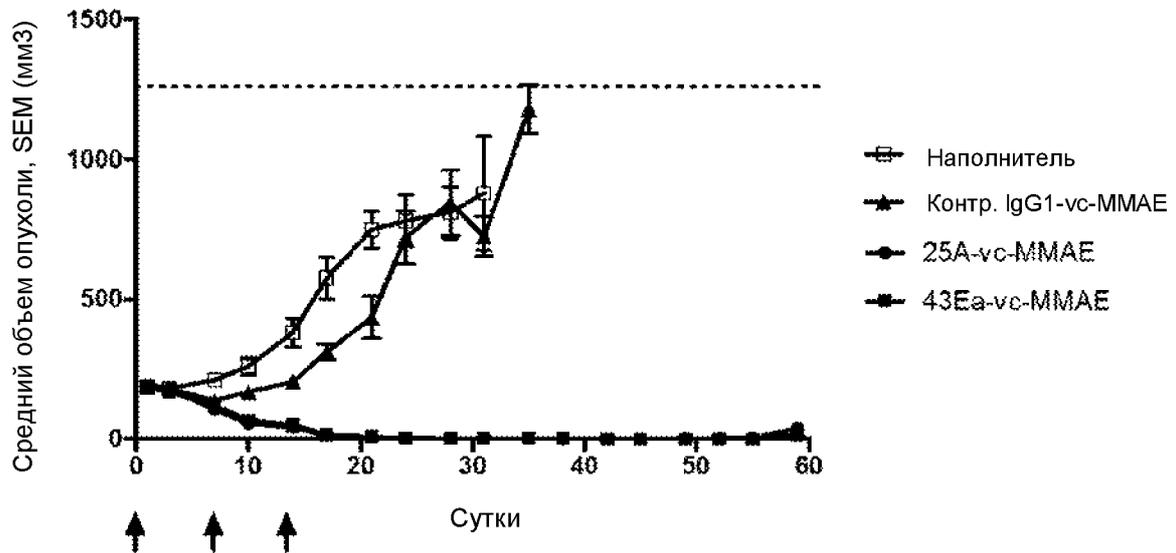
Фиг. 9В



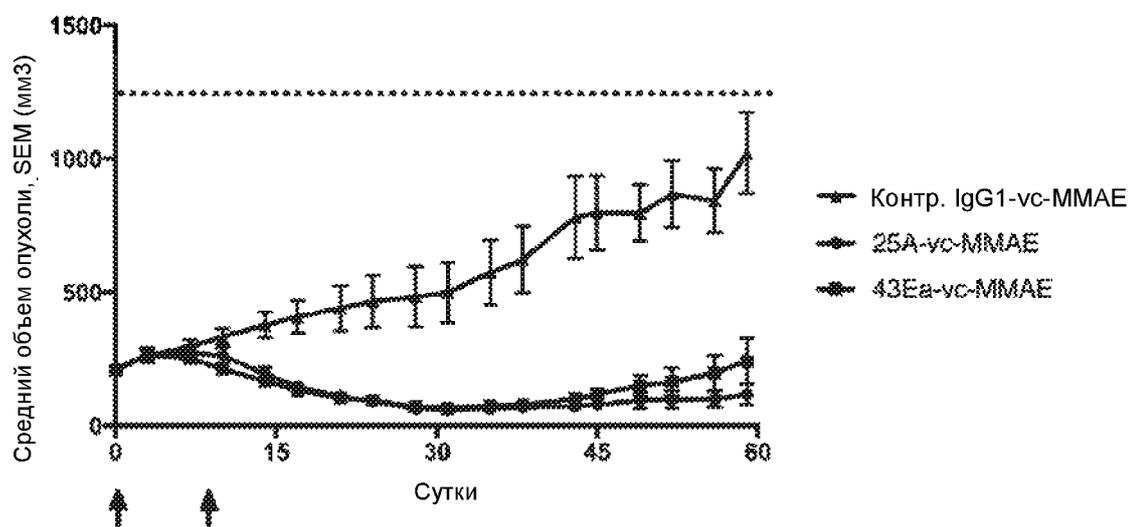
Фиг. 10А



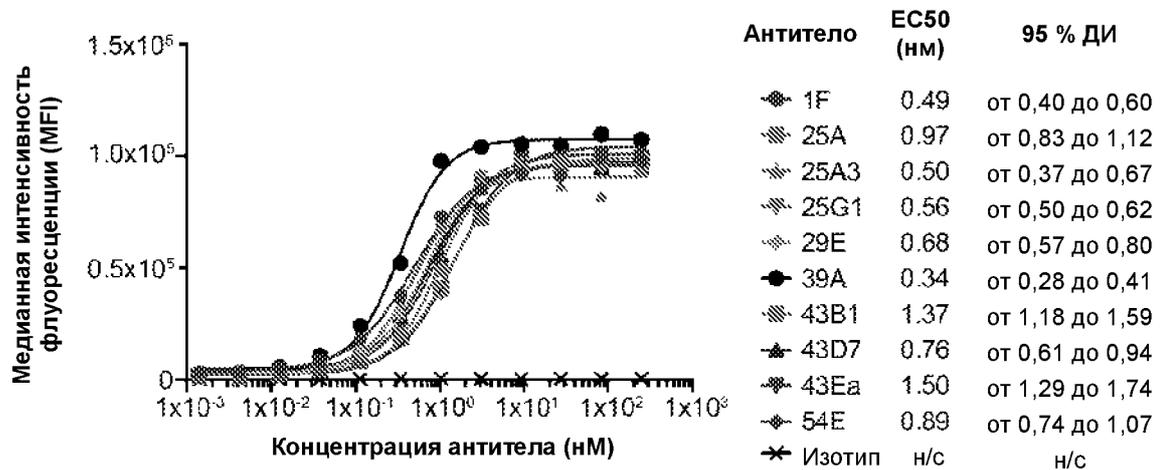
Фиг. 10В



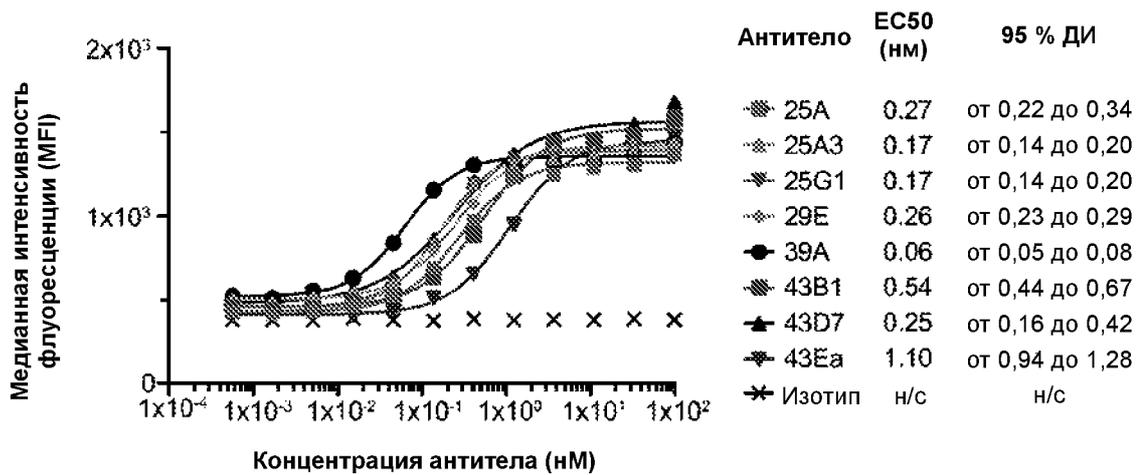
Фиг. 11



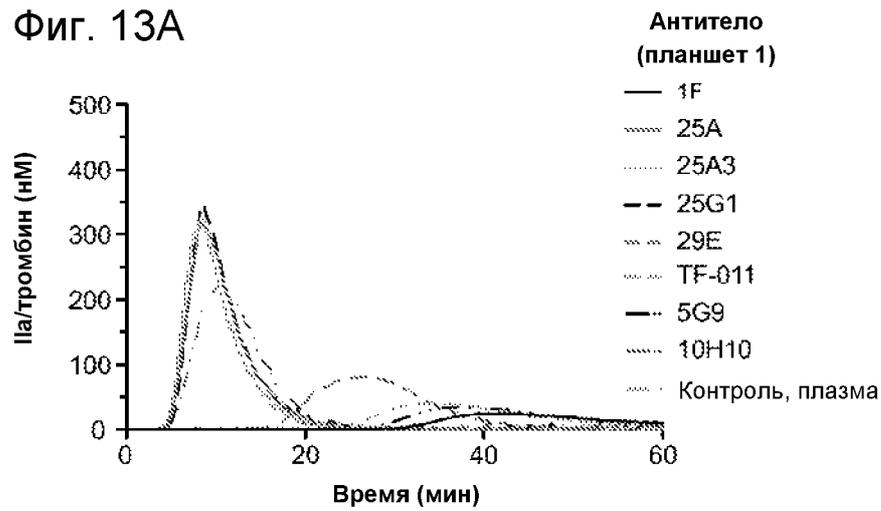
Фиг. 12А



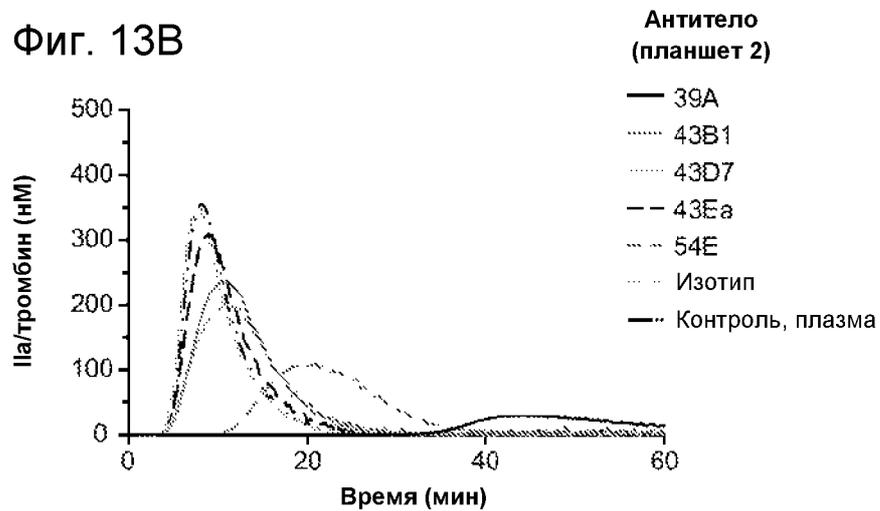
Фиг. 12В



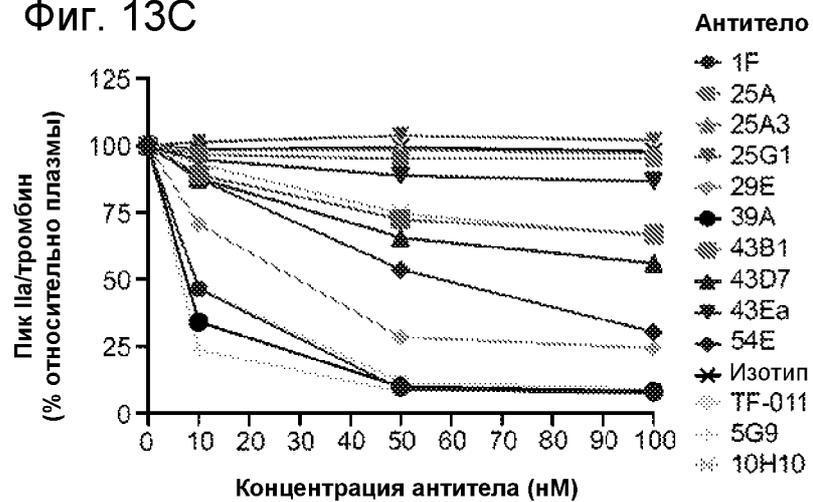
Фиг. 13А



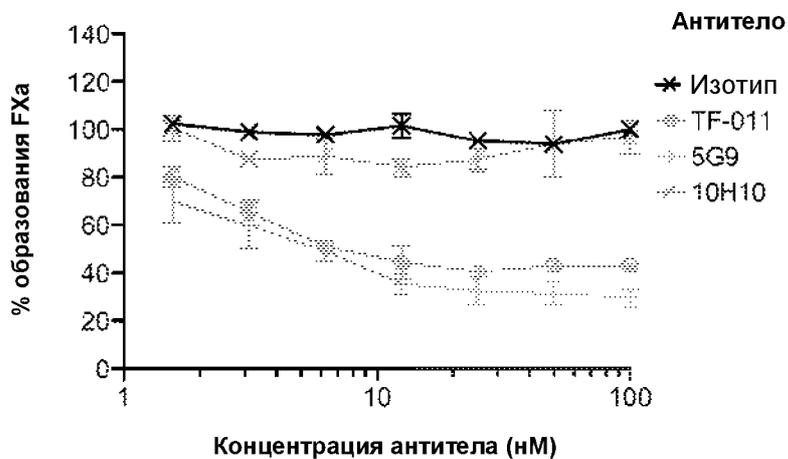
Фиг. 13В



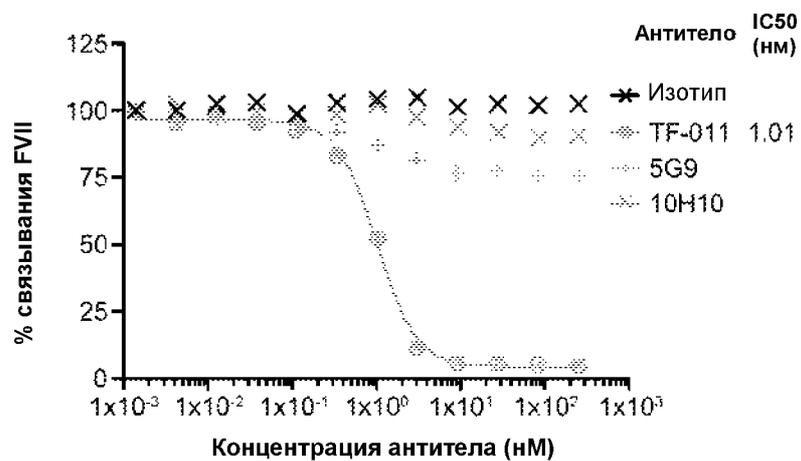
Фиг. 13С



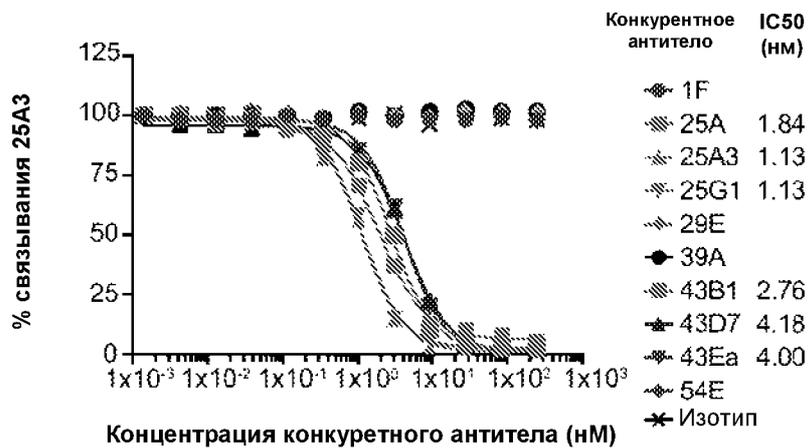
Фиг. 14А



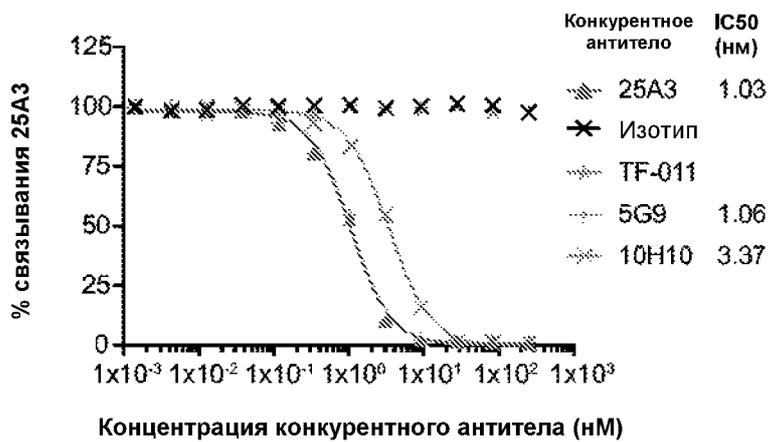
Фиг. 14В



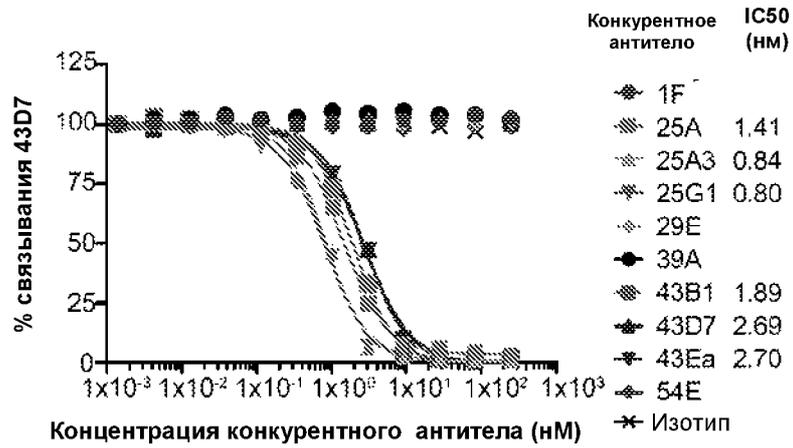
Фиг. 15А



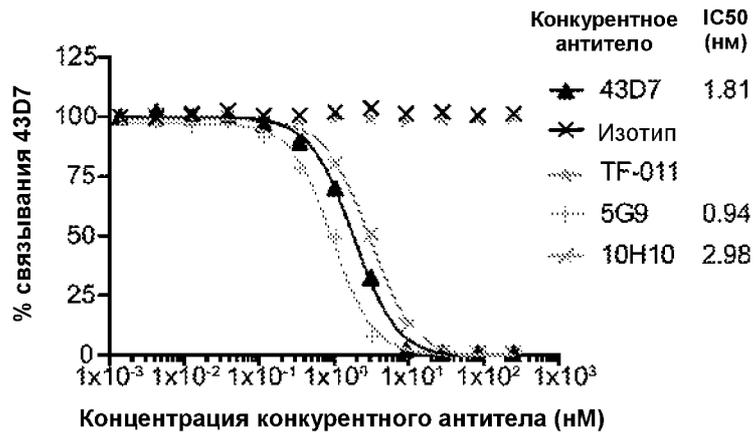
Фиг. 15В



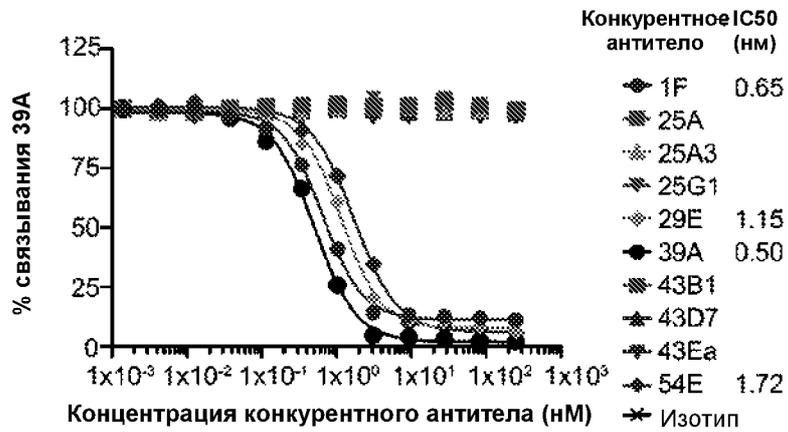
Фиг. 16А



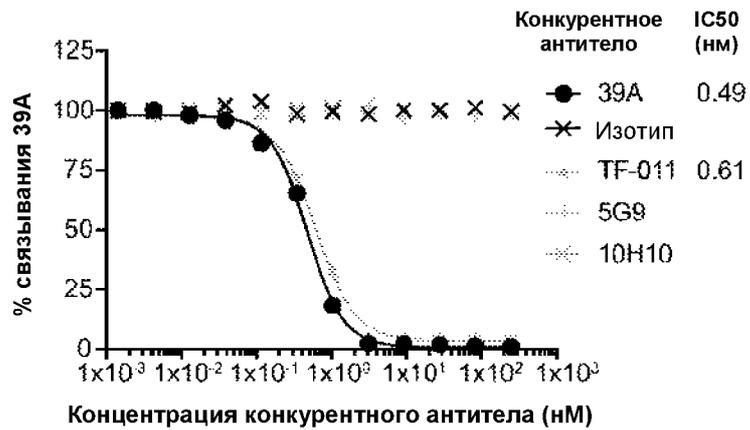
Фиг. 16В



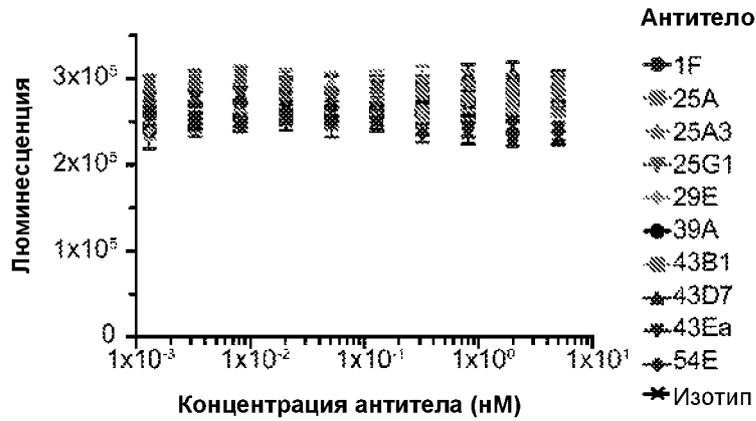
Фиг. 17А



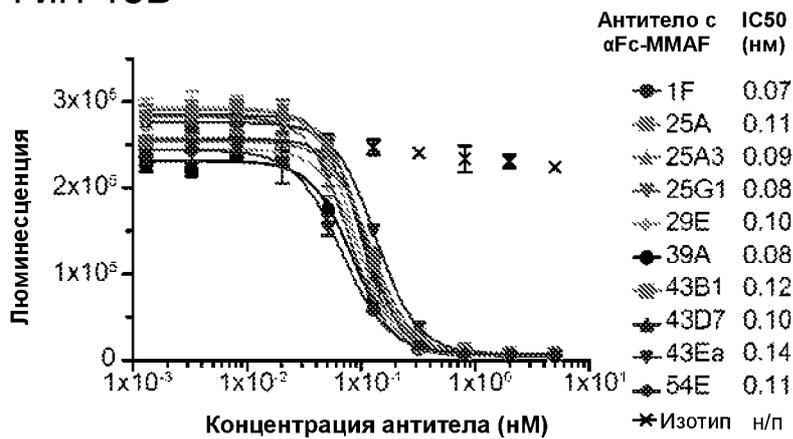
Фиг. 17В



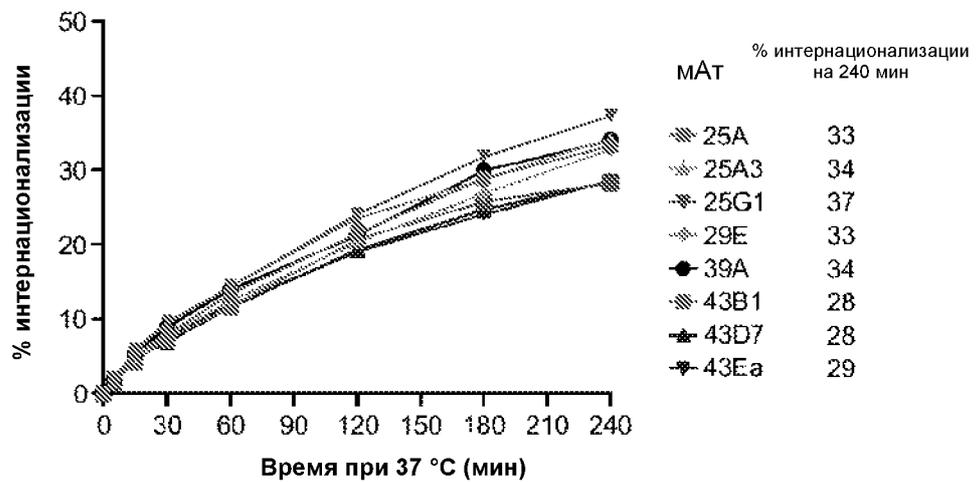
Фиг. 18А



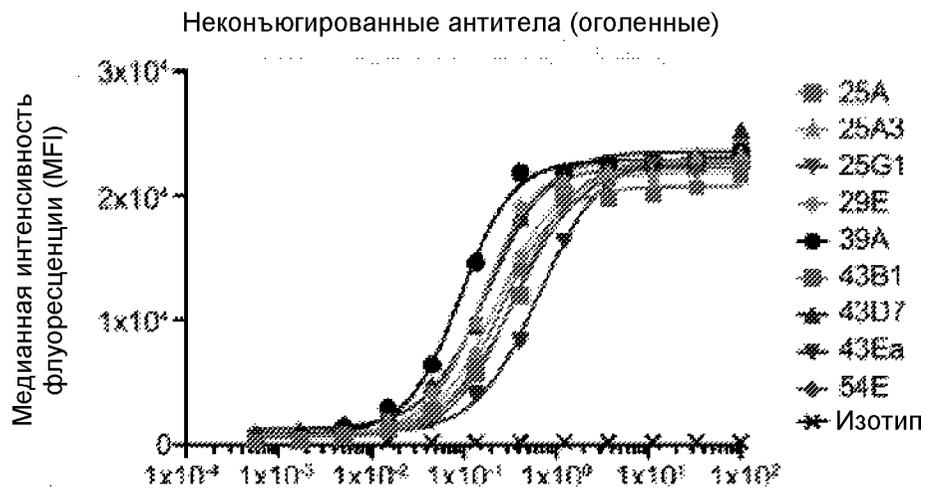
Фиг. 18В



Фиг. 18С



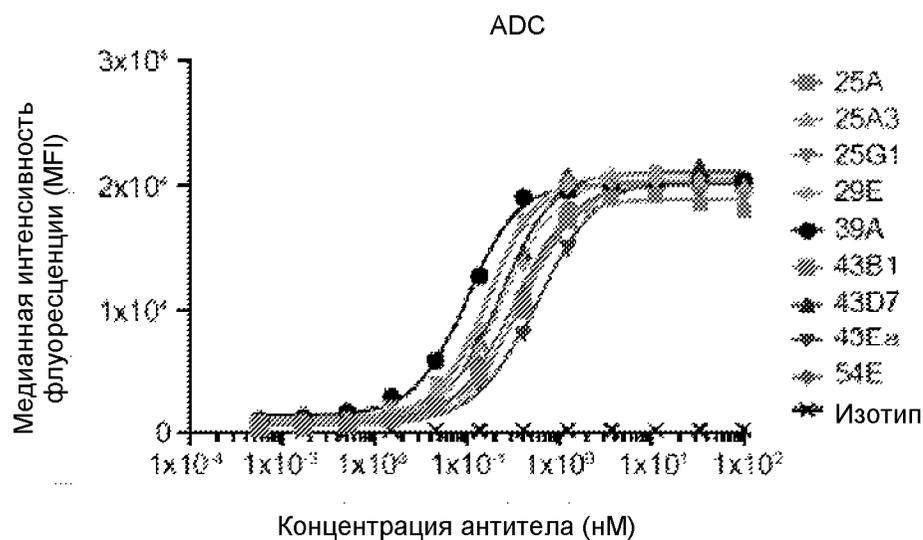
Фиг. 19А



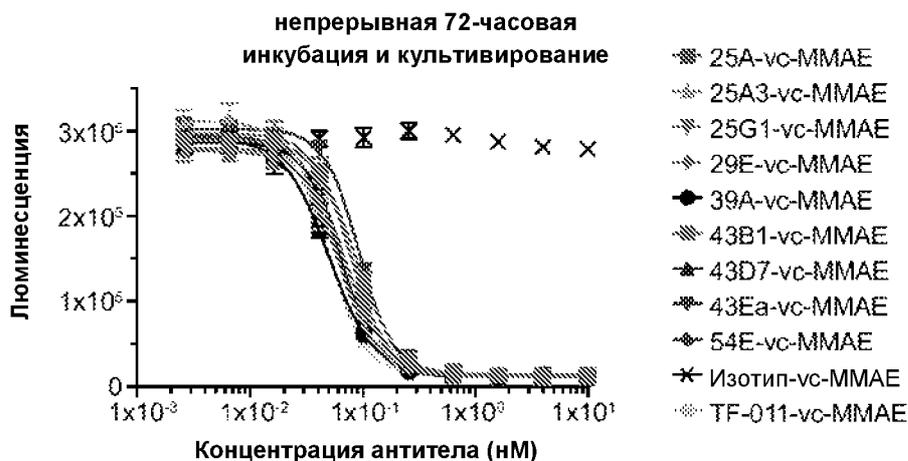
Фиг. 19С

Антитело	EC50 (нМ)		95% CI	
	Оголенное	ADC	Оголенное	ADC
25A	0.25	0.34	от 0,21 до 0,29	от 0,29 до 0,41
25A3	0.16	0.17	от 0,13 до 0,19	от 0,14 до 0,19
25G1	0.16	0.17	от 0,14 до 0,18	от 0,13 до 0,21
29E	0.23	0.25	от 0,20 до 0,26	от 0,21 до 0,29
39A	0.09	0.10	от 0,08 до 0,11	от 0,09 до 0,11
43B1	0.36	0.40	от 0,31 до 0,42	от 0,35 до 0,47
43D7	0.19	0.23	от 0,15 до 0,23	от 0,19 до 0,27
43Ea	0.65	0.58	от 0,56 до 0,76	от 0,49 до 0,68
54E	0.36	0.33	от 0,31 до 0,42	от 0,27 до 0,39
Изотип	н/п	н/п	н/п	н/п

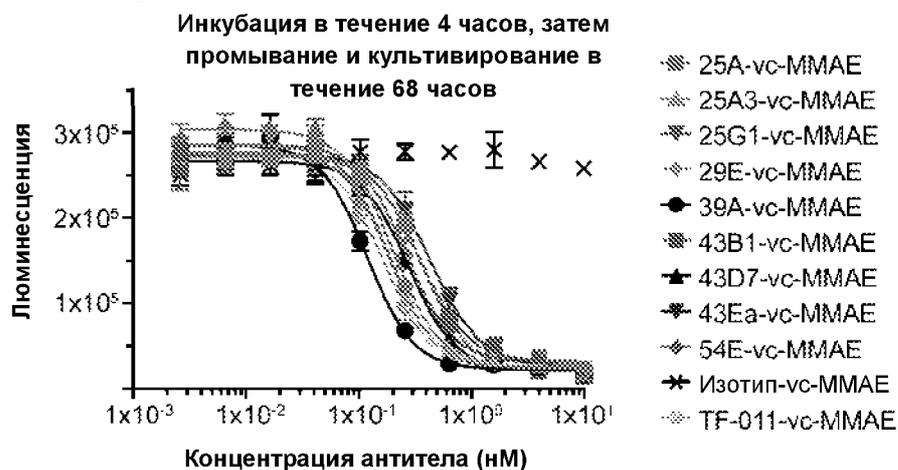
Фиг. 19В



Фиг. 20А



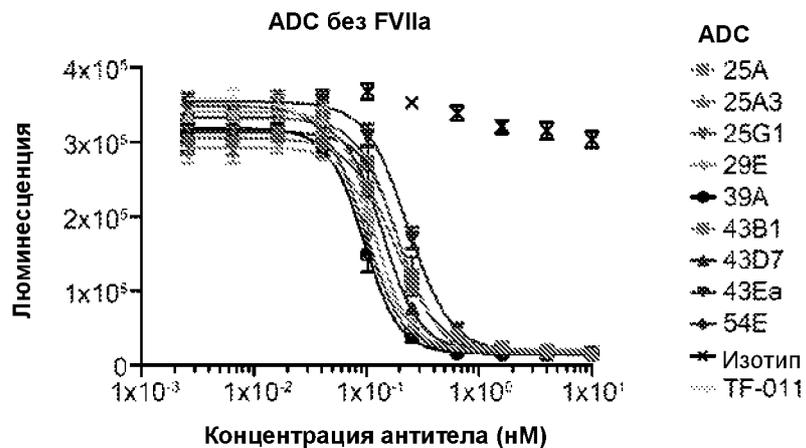
Фиг. 20В



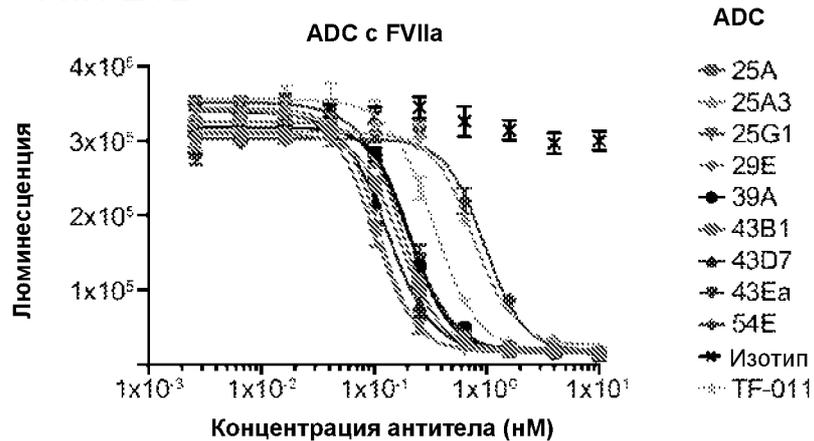
Фиг. 20С

	IC50 (нМ)	
	непрер. «Отмывка»	
▨ 25A-vc-MMAE	0.09	0.35
▧ 25A3-vc-MMAE	0.07	0.19
▩ 25G1-vc-MMAE	0.06	0.19
▪ 29E-vc-MMAE	0.06	0.20
● 39A-vc-MMAE	0.05	0.12
▫ 43B1-vc-MMAE	0.08	0.36
▬ 43D7-vc-MMAE	0.06	0.28
▮ 43Ea-vc-MMAE	0.09	0.43
▯ 54E-vc-MMAE	0.07	0.26
✱ Изотип-vc-MMAE	н/п	н/п
◊ TF-011-vc-MMAE	0.05	0.17

Фиг. 21А



Фиг. 21В



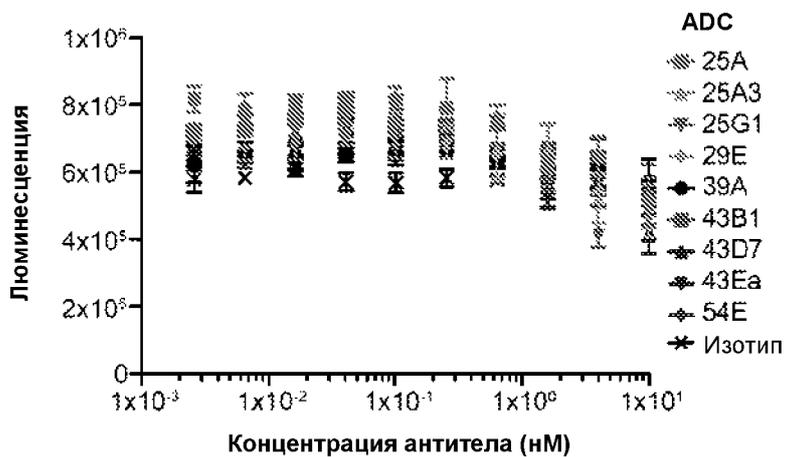
Фиг. 21С

ADC	IC50 (нМ)	
	Без FVIIa	С FVIIa
25A	0.18	0.17
25A3	0.12	0.11
25G1	0.10	0.10
29E	0.13	0.77
39A	0.09	0.22
43B1	0.19	0.19
43D7	0.14	0.13
43Ea	0.24	0.19
54E	0.20	0.97
Изотип	н/п	н/п
TF-011	0.09	0.34

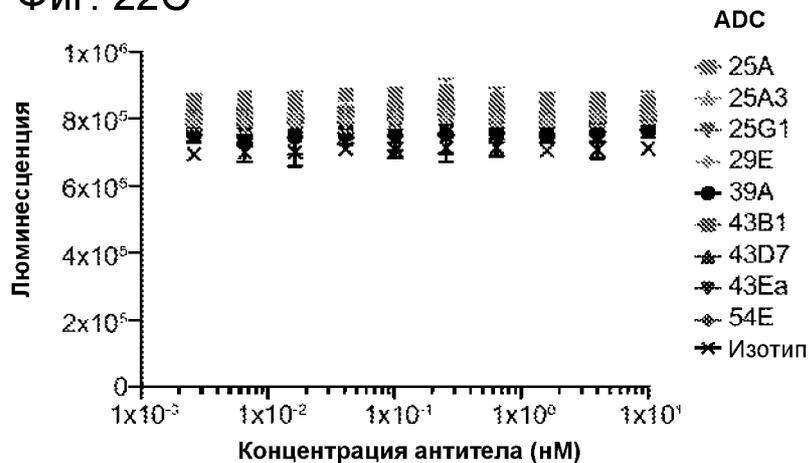
Фиг. 22А

Клеточная линия	Количество копий	SEM (n)
A431	$1.9 \times 10^5$	$4.7 \times 10^4$ (8)
CHO	BLOQ	BLOQ (2)
HCT-116	$2.2 \times 10^4$	$6.5 \times 10^3$ (6)
HPAF-II	$5.7 \times 10^5$	$4.5 \times 10^4$ (8)
MDA-MB-231	$3.2 \times 10^5$	$2.7 \times 10^4$ (7)
RF/6A	$7.3 \times 10^4$	$1.7 \times 10^4$ (4)

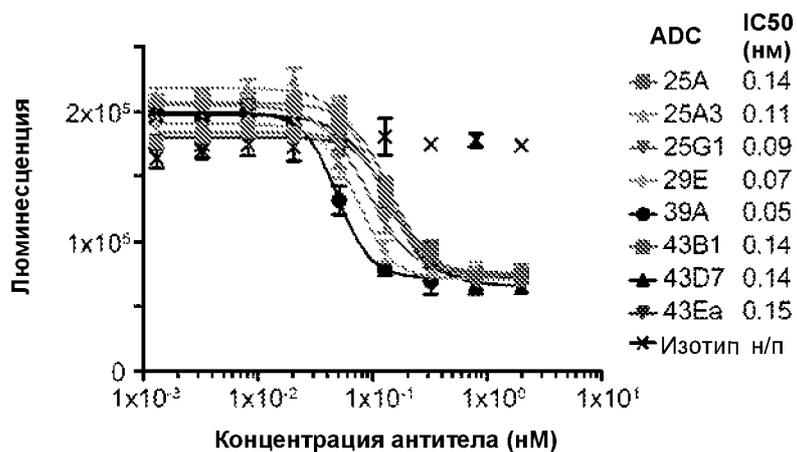
Фиг. 22В



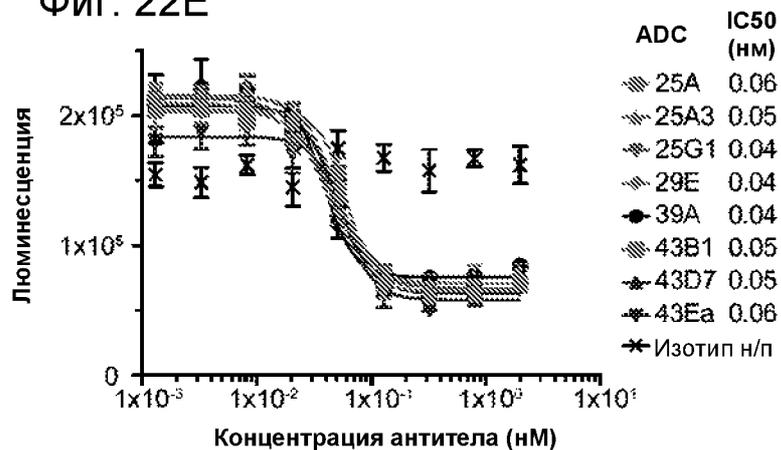
Фиг. 22С



Фиг. 22D



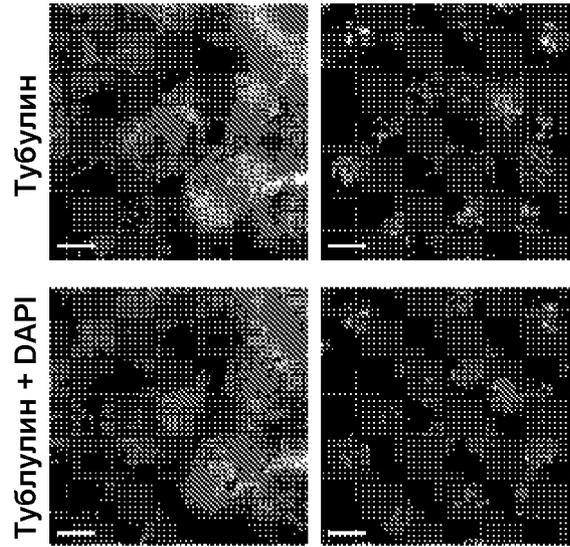
Фиг. 22E



Фиг. 23А

A431

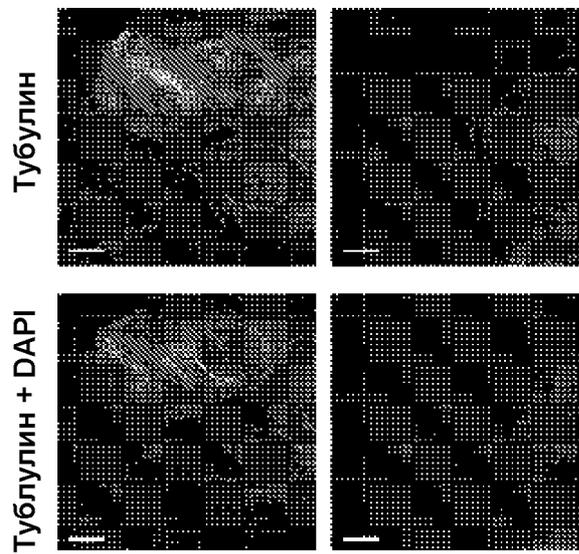
Изотипический контр.-vc-MMAE 25A3-vc-MMAE



Фиг. 23В

HPAF-II

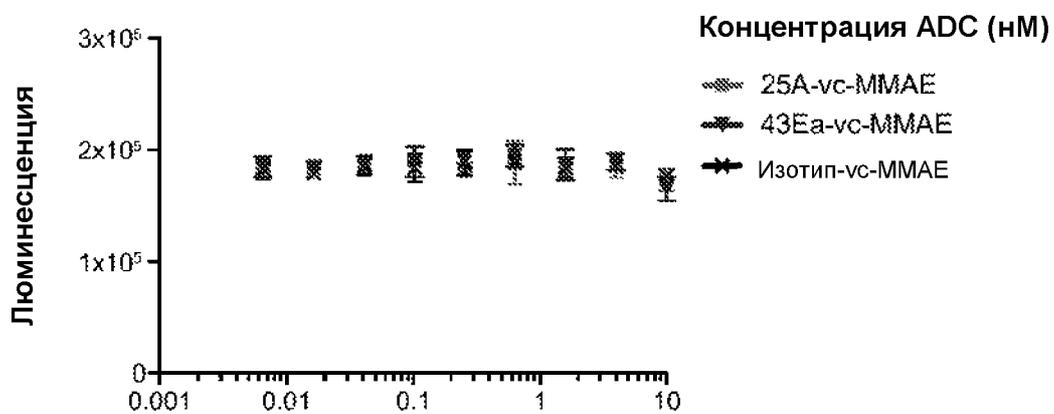
Изотипический контр.-vc-MMAE 25A3-vc-MMAE



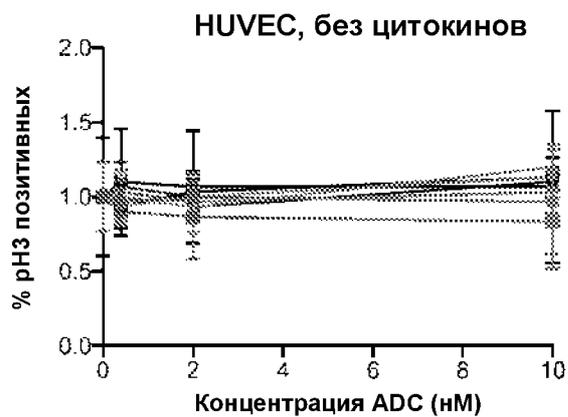
Фиг. 24А

Лечение	Номер донора (№)	Копия, №	SEM
Без лечения	6	$2.4 \times 10^3$	$4.2 \times 10^2$
3 ч цитокинов	5	$8.7 \times 10^3$	$7.7 \times 10^2$
6 ч цитокинов	5	$1.2 \times 10^4$	$8.5 \times 10^2$
20 ч цитокинов	2	$4.6 \times 10^3$	$2.9 \times 10^2$

Фиг. 24В



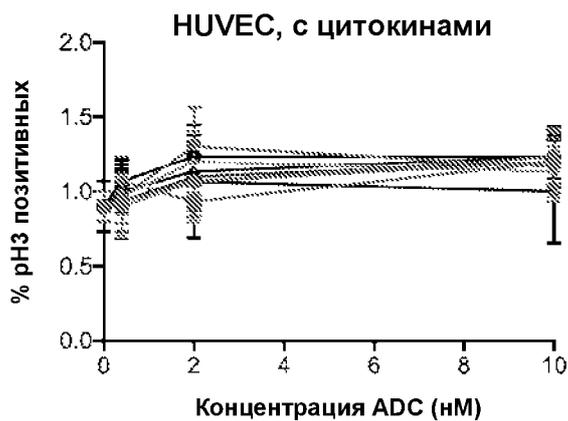
Фиг. 25А



ADC

- 25A-vc-MMAE
- 25A3-vc-MMAE
- 25G1-vc-MMAE
- 29E-vc-MMAE
- 39A-vc-MMAE
- 43B1-vc-MMAE
- 43D7-vc-MMAE
- 43Ea-vc-MMAE
- Изотип-vc-MMAE

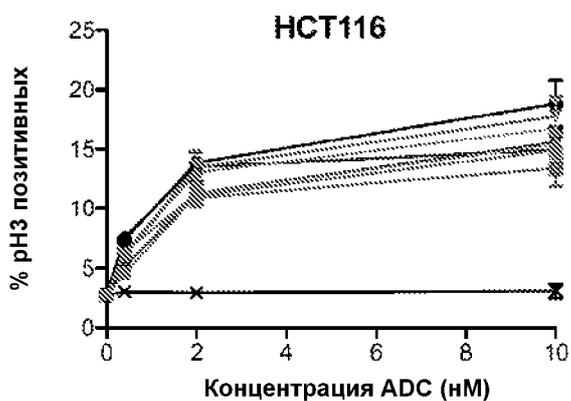
Фиг. 25В



ADC

- 25A-vc-MMAE
- 25A3-vc-MMAE
- 25G1-vc-MMAE
- 29E-vc-MMAE
- 39A-vc-MMAE
- 43B1-vc-MMAE
- 43D7-vc-MMAE
- 43Ea-vc-MMAE
- Изотип-vc-MMAE

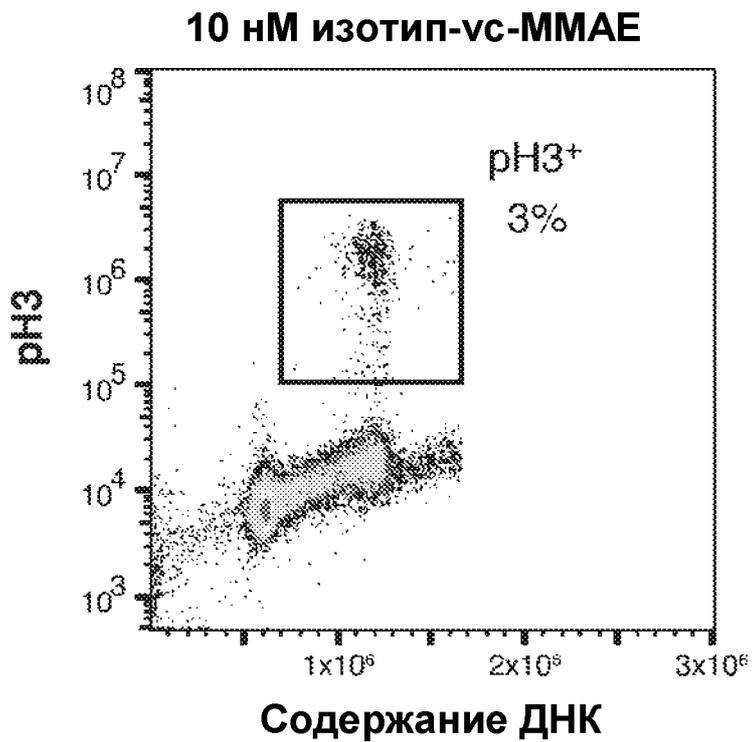
Фиг. 25С



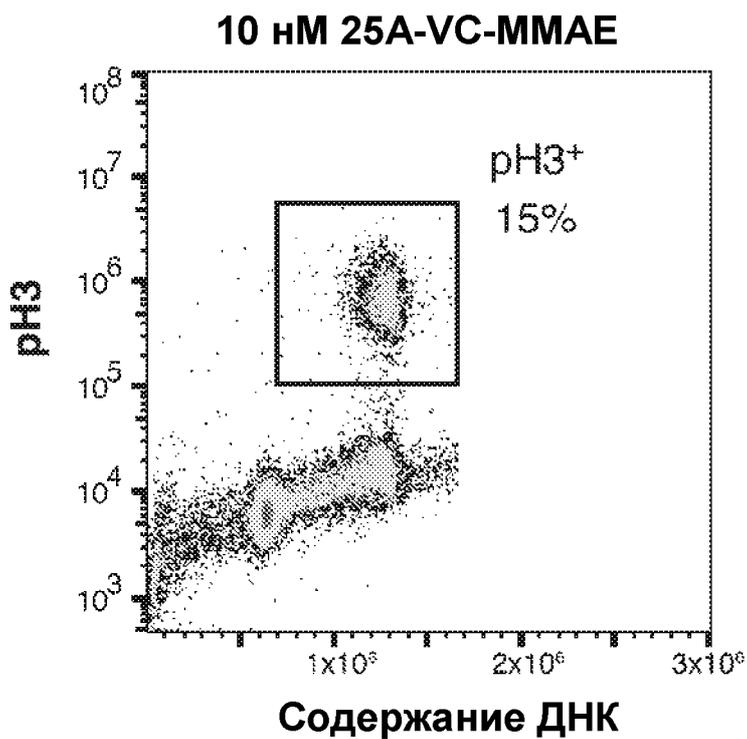
ADC

- 25A-vc-MMAE
- 25A3-vc-MMAE
- 25G1-vc-MMAE
- 29E-vc-MMAE
- 39A-vc-MMAE
- 43B1-vc-MMAE
- 43D7-vc-MMAE
- 43Ea-vc-MMAE
- Изотип-vc-MMAE

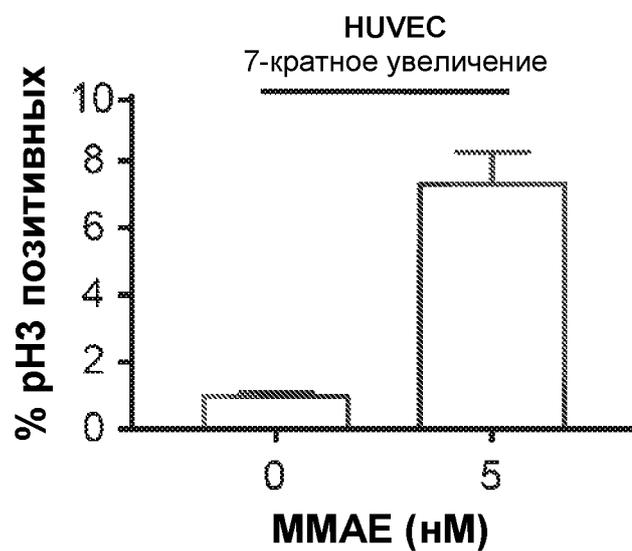
Фиг. 26А



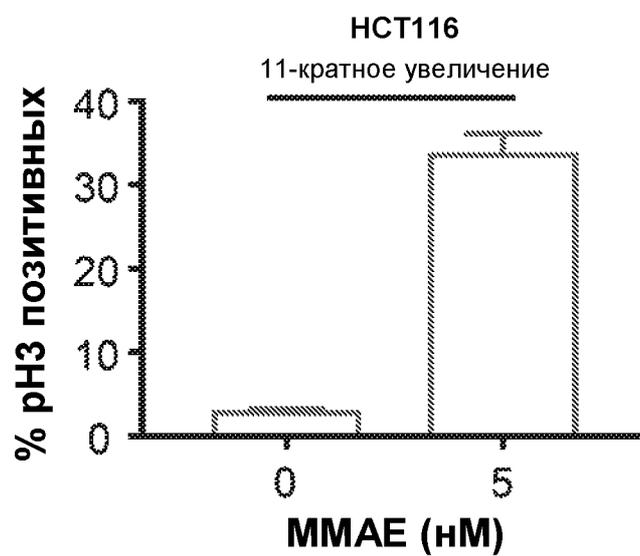
Фиг. 26В



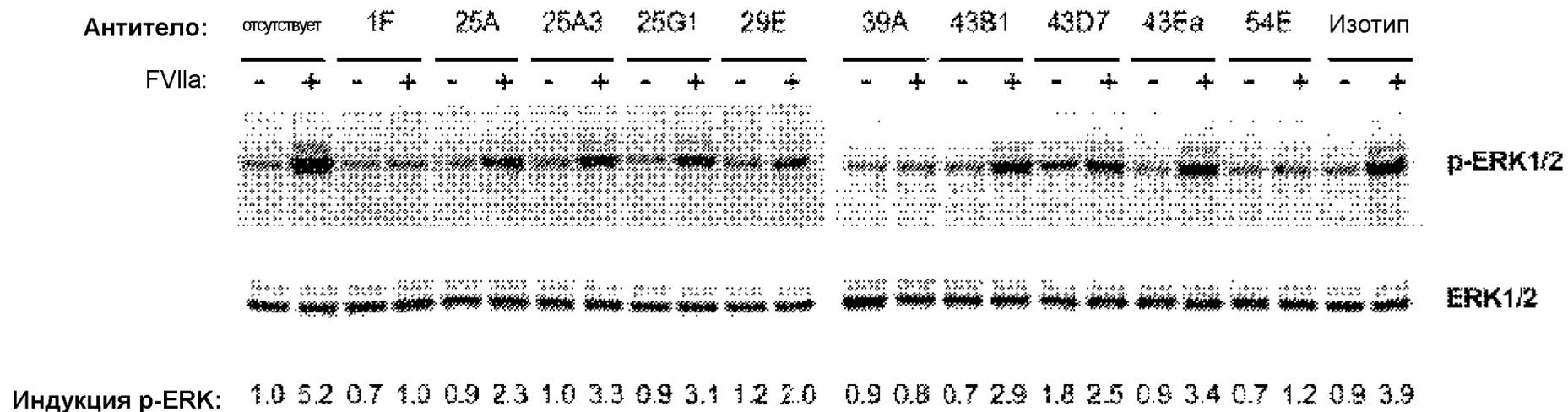
Фиг. 27А



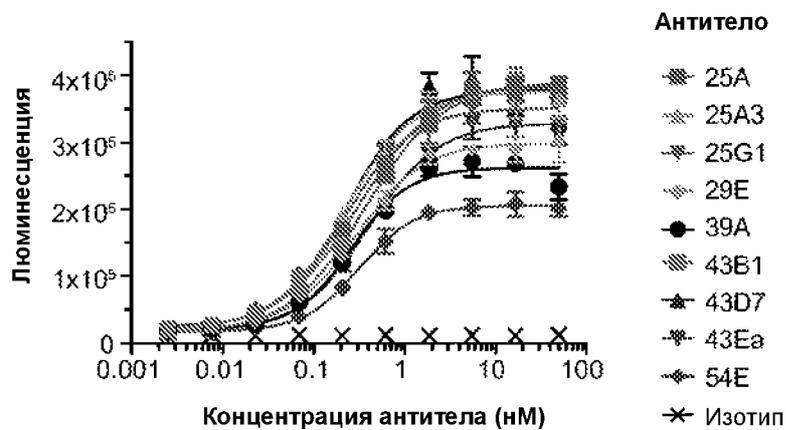
Фиг. 27В



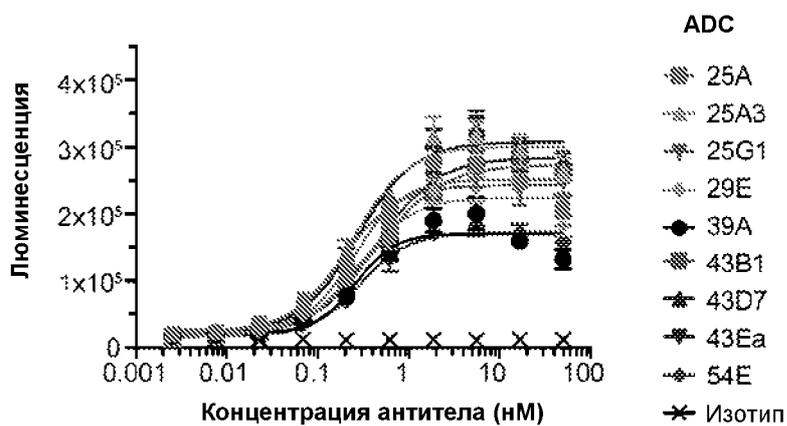
Фиг. 28



Фиг. 29А



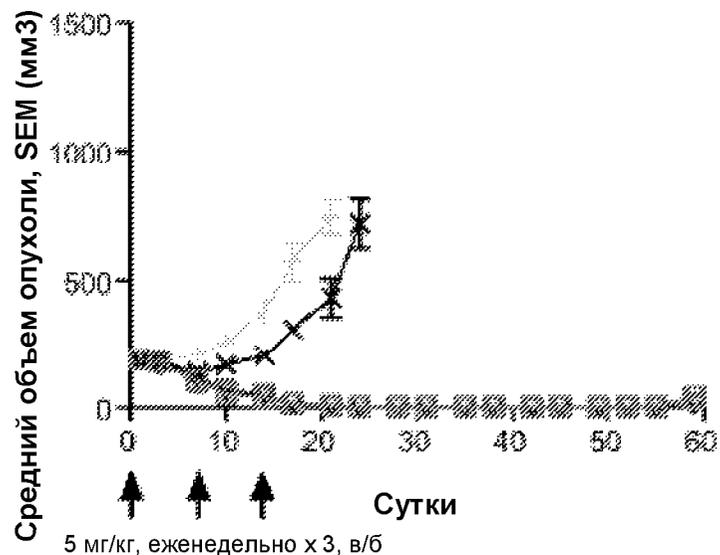
Фиг. 29В



Фиг. 29С

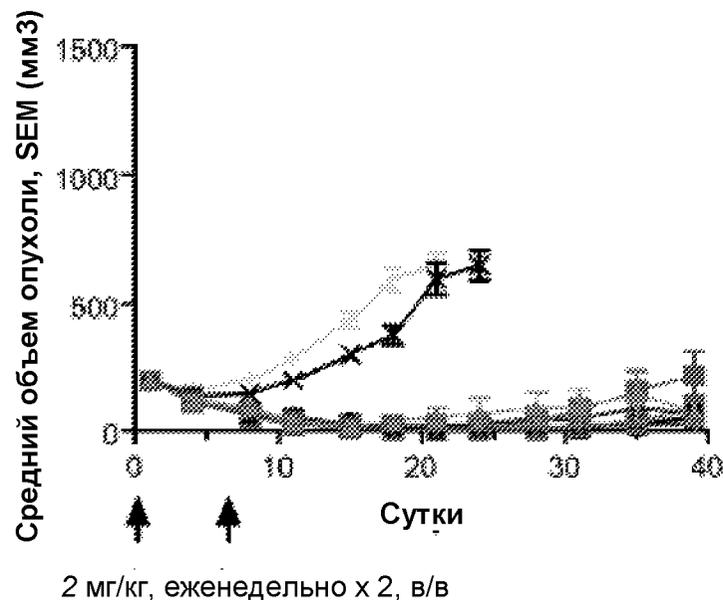
Антитело	EC50 (нМ)	
	Оголенное	ADC
25A	0.31	0.26
25A3	0.22	0.24
25G1	0.22	0.18
29E	0.29	0.28
39A	0.26	0.26
43B1	0.36	0.42
43D7	0.23	0.27
43Ea	0.40	0.43
54E	0.31	0.30
Изотип	н/п	н/п

**Фиг. 30А**



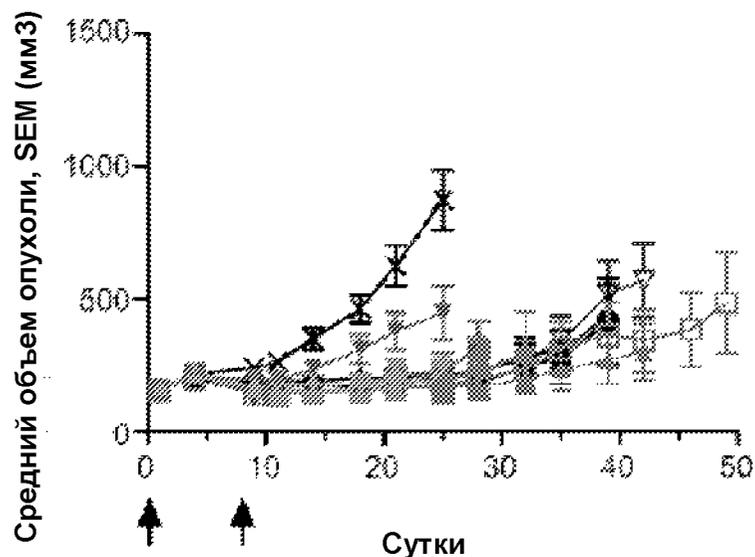
Лечение	21-е сутки (n)	Среднее ± [SEM] (мм³)	<i>P</i>	% TGI	59-е сутки ЧО/ПО/ВБО
25A-vc-MMAE	10	8 [2]	<0.0001	132	0/2/2
43Ea-vc-MMAE	10	8 [3]	<0.0001	131	0/2/4
Изотип-vc-MMAE	10	434 [76]	NS	56	0/0/0
TF-011-vc-MMAE	10	7 [3]	<0.0001	132	0/5/5
Наполнитель	10	749 [68]	-	0	0/0/0

**Фиг. 30В**



Лечение	21-е сутки (n)	Среднее ± [SEM] (мм³)	<i>P</i>	% TGI	39-е сутки ЧО/ПО/ВБО
25A-vc-MMAE	10	4 [1]	<0.001	139	1/1/8
25A3-vc-MMAE	10	17 [10]	<0.001	129	2/0/7
25G1-vc-MMAE	10	4 [1]	<0.001	138	1/2/7
38A-vc-MMAE	10	8 [2]	<0.001	137	1/0/9
43B1-vc-MMAE	10	10 [3]	<0.001	137	3/1/6
43D7-vc-MMAE	10	9 [3]	<0.001	137	3/1/6
43Ea-vc-MMAE	9	23 [22]	<0.001	135	0/0/8
Изотип-vc-MMAE	10	588 [62]	NS	32	0/0/0
Наполнитель	10	708 [66]	-	0	0/0/0

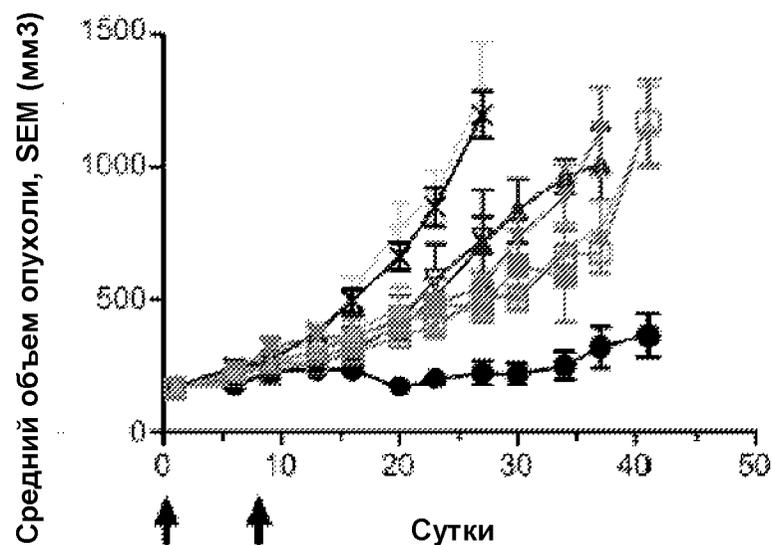
Фиг. 31А



4 мг/кг, еженедельно x 2, в/в

Лечение	25-е сутки (n)	Среднее ± [SEM] (мм³)	P	% TGI	49-е сутки ЧО/ПО/ВБО
25A-vc-MMAE	10	174 [43]	<0.0001	98	3/0/1
25A3-vc-MMAE	10	153 [43]	<0.0001	100	1/1/1
25G1-vc-MMAE	10	449 [102]	<0.0001	69	1/1/1
29E-vc-MMAE	10	180 [78]	<0.0001	97	1/0/3
39A-vc-MMAE	10	160 [45]	<0.0001	99	0/4/1
43B1-vc-MMAE	10	232 [66]	<0.0001	92	1/0/0
43D7-vc-MMAE	10	217 [49]	<0.0001	93	0/0/1
43Ea-vc-MMAE	10	203 [56]	<0.0001	95	2/0/0
Изотип-vc-MMAE	10	873 [114]	NS	24	0/0/0
Наполнитель	10	1098 [133]	-	0	0/0/0

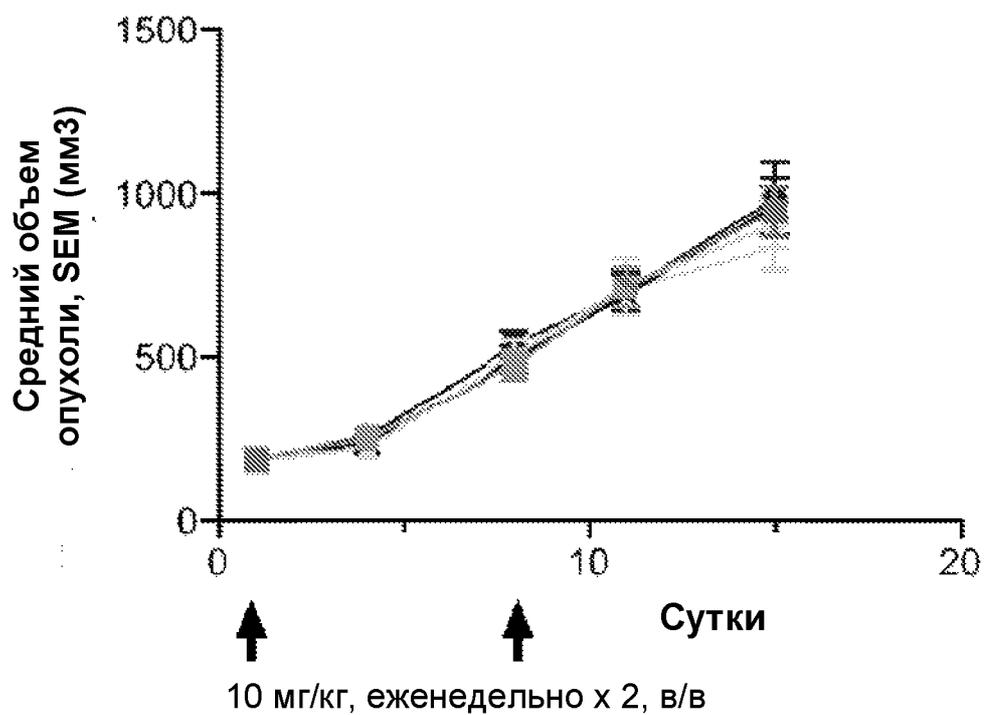
Фиг. 31В



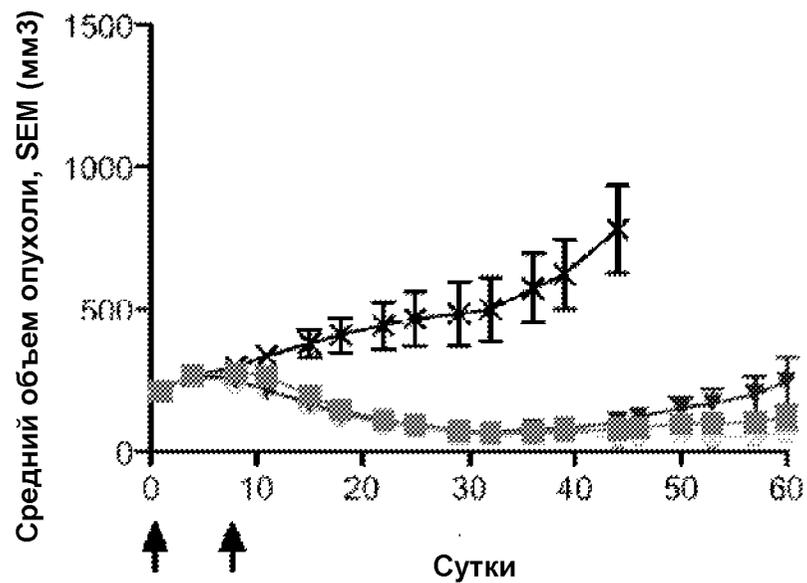
2 мг/кг, еженедельно x 2, в/в

Лечение	27-е сутки (n)	Среднее ± [SEM] (мм³)	P	% TGI	41-е сутки ЧО/ПО/ВБО
25A-vc-MMAE	7	517 [52]	<0.001	87	0/0/0
25A3-vc-MMAE	7	495 [69]	<0.0001	68	0/0/0
25G1-vc-MMAE	7	550 [53]	<0.001	63	0/0/0
39A-vc-MMAE	7	223 [46]	<0.0001	92	2/0/0
43B1-vc-MMAE	7	472 [58]	<0.0001	70	0/0/0
43D7-vc-MMAE	7	708 [104]	<0.01	49	0/0/0
43Ea-vc-MMAE	7	728 [188]	<0.05	48	0/0/0
Изотип-vc-MMAE	7	1197 [88]	NS	9	0/0/0
Наполнитель	7	1292 [180]	-	0	0/0/0

Фиг. 32



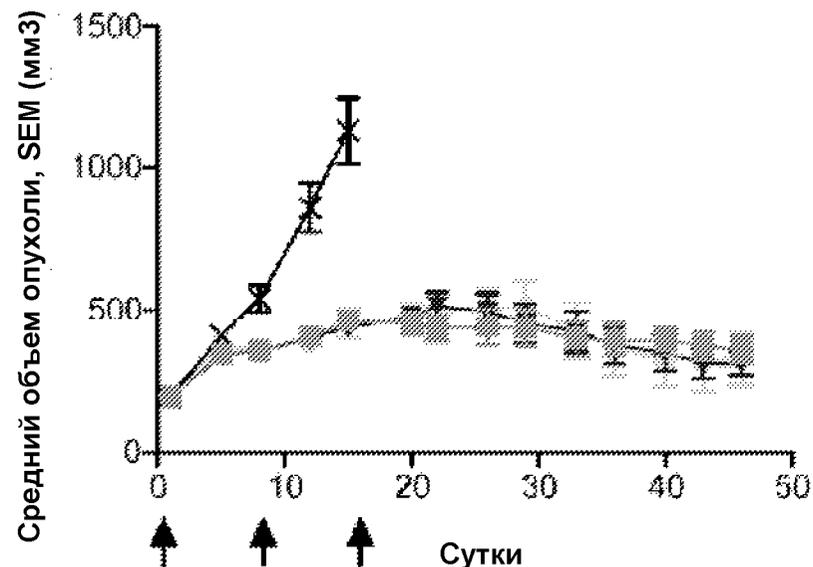
Фиг. 33А



5 мг/кг, еженедельно x 2, в/б

Лечение	44-е сутки (n)	Среднее ± [SEM] (мм³)	P	% TGI	60-е сутки ЧО/ПО/ВБО
25A-vc-MMAE	10	74 [16]	<0.001	124	5/0/1
43Ea-vc-MMAE	10	100 [18]	<0.001	119	6/0/0
Изотип-vc-MMAE	10	780 [154]	-	0	0/0/0
TF-011-vc-MMAE	10	49 [8]	<0.001	128	6/0/2

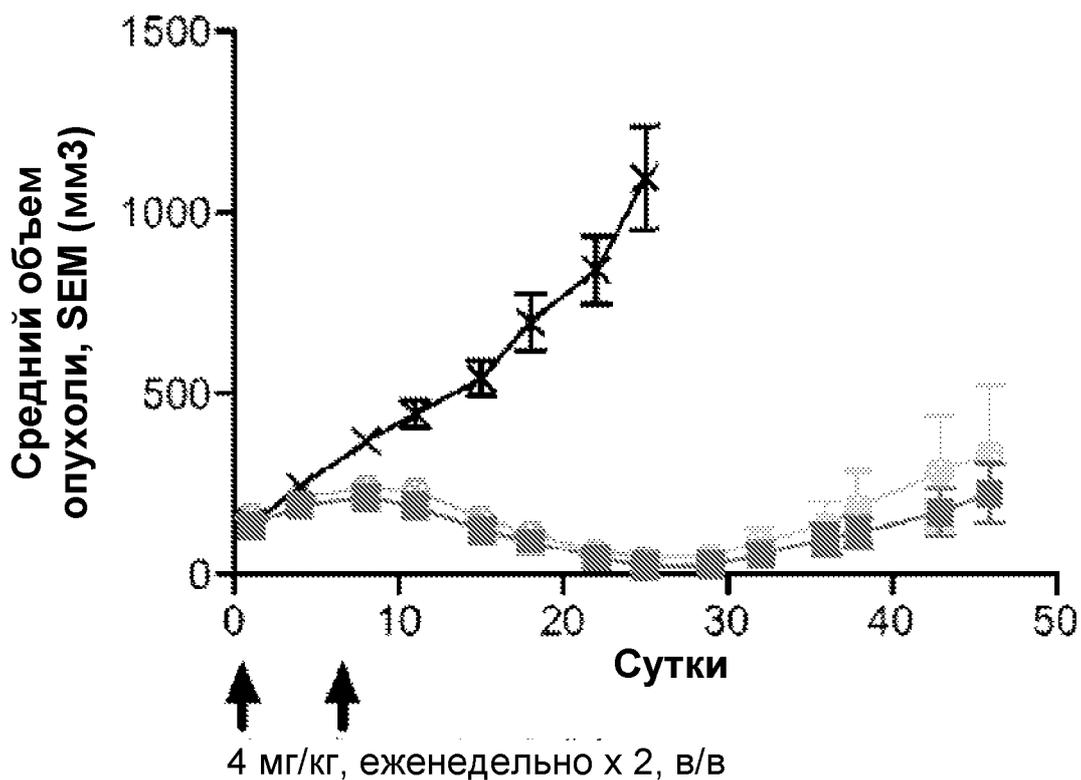
Фиг. 33В



2,5 мг/кг, еженедельно x 3, в/б

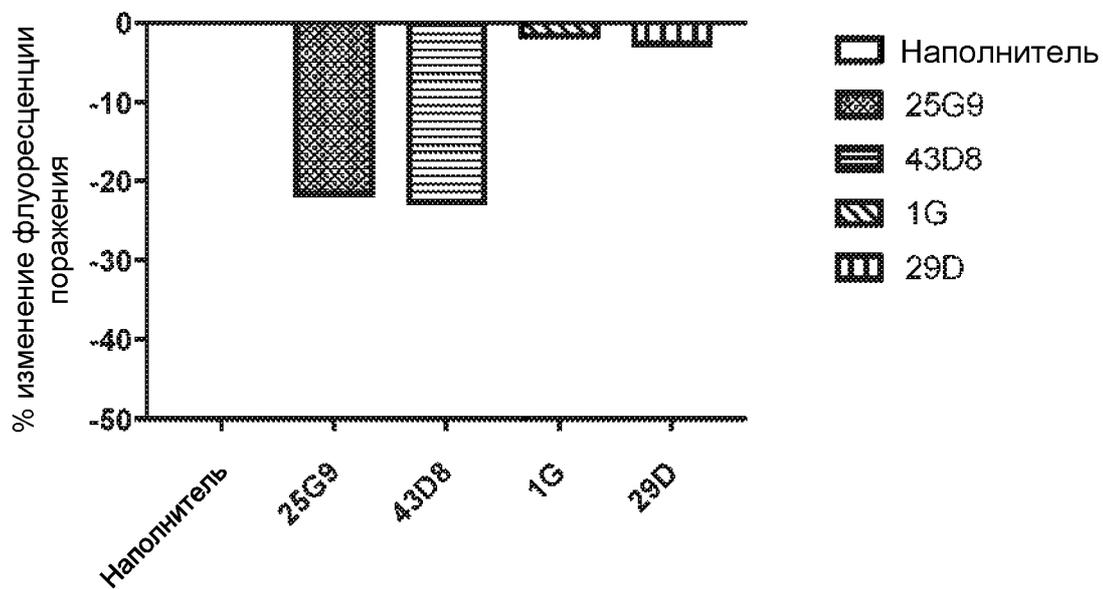
Лечение	15-е сутки (n)	Среднее ± [SEM] (мм³)	P	% TGI	46-е сутки ЧО/ПО/ВБО
25A-vc-MMAE	10	464 [35]	<0.001	71	0/0/0
43Ea-vc-MMAE	10	439 [23]	<0.001	74	0/0/0
Изотип-vc-MMAE	10	1131 [118]	-	0	0/0/0
TF-011-vc-MMAE	10	452 [50]	<0.001	72	0/0/0

Фиг. 33С

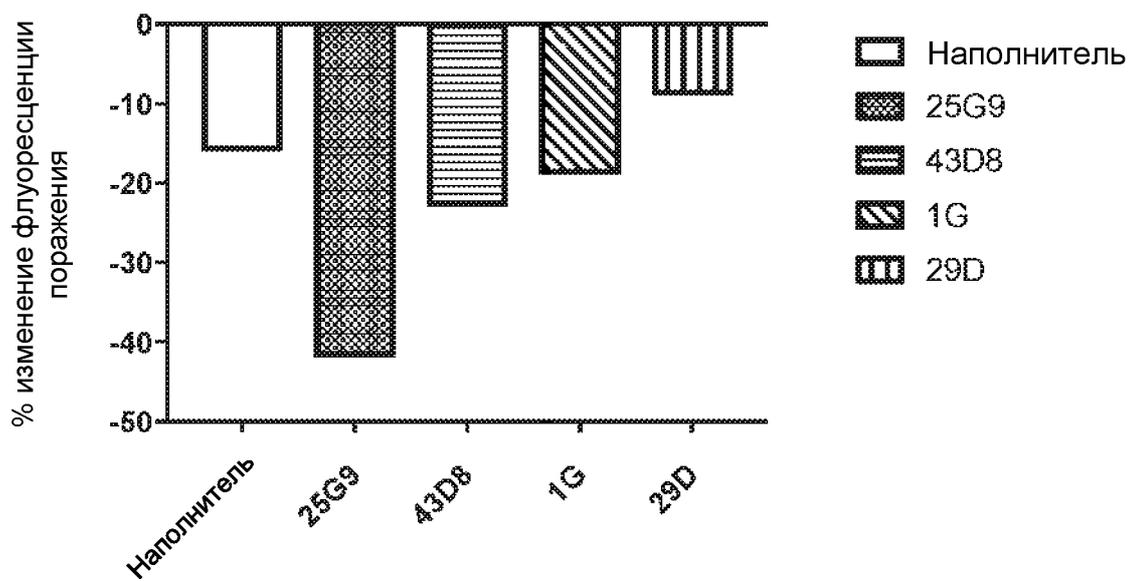


Лечение	25-е сутки (n)	Среднее ± [SEM] (мм <sup>3</sup> )	<i>P</i>	% TGI	46-е сутки ЧО/ПО/ВБО
25A-vc-MMAE	9	24 [7]	<0.001	112	2/2/3
Изотип-vc-MMAE	9	1093 [143]	-	0	0/0/0
TF-011-vc-MMAE	9	46 [12]	<0.001	112	0/1/5

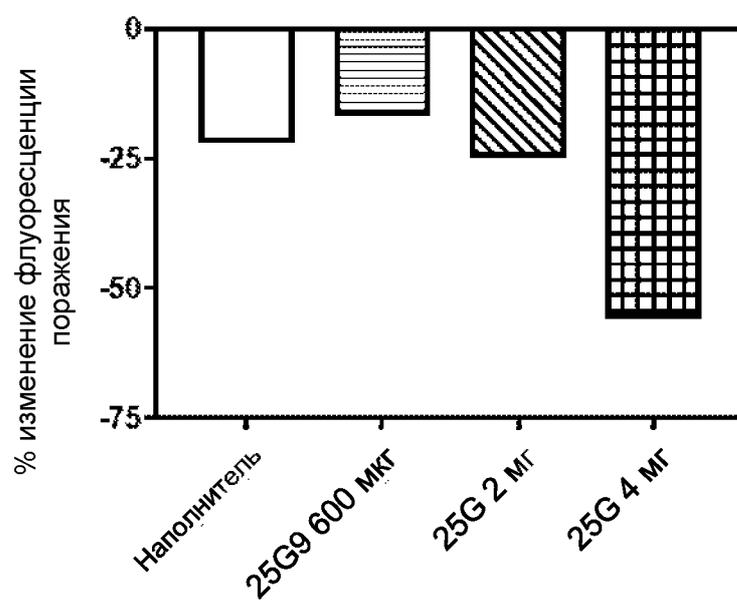
Фиг. 34А



Фиг. 34В



Фиг. 35





Фиг. 36 (продолжение)

hTF (SEQ ID NO:810)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
rTF (SEQ ID NO:838)	<b>DEIVKDVNWTYEARVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQ</b>	114
h1-107_r (SEQ ID NO:839)	<b>DEIVKDVNWTYEARVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQ</b>	114
h1-77_r (SEQ ID NO:840)	<b>DEIVKDVNWTYEARVLSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ</b>	114
h1-38_r (SEQ ID NO:841)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h39-77_r (SEQ ID NO:842)	<b>DEIVKDVNWTYEARVLSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ</b>	114
h78-107_r (SEQ ID NO:843)	DEIVKDVKQTYLARVFSVPWRNSTHG-----THGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQ	114
h78-107_r.v2 (SEQ ID NO:844)	DEIVKDVKQTYLARVFSVPWRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQ	114
h78-93_r (SEQ ID NO:845)	DEIVKDVKQTYLARVFSVPWRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQ	114
h94-107_r (SEQ ID NO:846)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQ	114
h108-219_r (SEQ ID NO:847)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h108-158_r (SEQ ID NO:848)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h108-132_r (SEQ ID NO:849)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h133-158_r (SEQ ID NO:850)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h133-145_r (SEQ ID NO:851)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h133-139_r (SEQ ID NO:852)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h140-145_r (SEQ ID NO:853)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h146-158_r (SEQ ID NO:854)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h146-151_r (SEQ ID NO:855)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h152-158_r (SEQ ID NO:856)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h159-219_r (SEQ ID NO:857)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h159-189_r (SEQ ID NO:858)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h159-174_r (SEQ ID NO:859)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h159-166_r (SEQ ID NO:860)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h167-174_r (SEQ ID NO:861)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h175-189_r (SEQ ID NO:862)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
h190-219_r (SEQ ID NO:863)	DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ	114
	*****: ** ***:* * * . ** : * : * ** :*:**.*	

Фиг. 36 (продолжение)

RTF (SEQ ID NO:810)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
RTF (SEQ ID NO:838)	<b>KYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKDSSSTGRKTNTTHTNE</b>	174
h1-107_r (SEQ ID NO:839)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h1-77_r (SEQ ID NO:840)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h1-38_r (SEQ ID NO:841)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h39-77_r (SEQ ID NO:842)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h78-107_r (SEQ ID NO:843)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h78-107_r.v2 (SEQ ID NO:844)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h78-93_r (SEQ ID NO:845)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h94-107_r (SEQ ID NO:846)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h108-219_r (SEQ ID NO:847)	<b>KYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKDSSSTGRKTNTTHTNE</b>	174
h108-158_r (SEQ ID NO:848)	<b>KYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNE</b>	174
h108-132_r (SEQ ID NO:849)	<b>KYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE</b>	174
h133-158_r (SEQ ID NO:850)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h133-145_r (SEQ ID NO:851)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRKNGTFLTLRQVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h133-139_r (SEQ ID NO:852)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRKNGTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h140-145_r (SEQ ID NO:853)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLTLRQVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h146-158_r (SEQ ID NO:854)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h146-151_r (SEQ ID NO:855)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h152-158_r (SEQ ID NO:856)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLGYILTYRKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h159-219_r (SEQ ID NO:857)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKDSSSTGRKTNTTHTNE	174
h159-189_r (SEQ ID NO:858)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKDSSSTGRKTNTTHTNE	174
h159-174_r (SEQ ID NO:859)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKDSSSTGRKTNTTHTNE	174
h159-166_r (SEQ ID NO:860)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKDSSSTGRKTAKTNTNE	174
h167-174_r (SEQ ID NO:861)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTNTTHTNE	174
h175-189_r (SEQ ID NO:862)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174
h190-219_r (SEQ ID NO:863)	SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE	174

Фиг. 36 (продолжение)

hTF (SEQ ID NO:810)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
rTF (SEQ ID NO:838)	<b>FLIDVEKGVSYCFFAQA VIFSRKTNNHKSPESITKCTEQWKSVLGE</b>	219
h1-107_r (SEQ ID NO:839)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h1-77_r (SEQ ID NO:840)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h1-38_r (SEQ ID NO:841)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h39-77_r (SEQ ID NO:842)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h78-107_r (SEQ ID NO:843)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h78-107_r.v2 (SEQ ID NO:844)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h78-93_r (SEQ ID NO:845)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h94-107_r (SEQ ID NO:846)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h108-219_r (SEQ ID NO:847)	FLIDVEKGVSYCFFAQA VIFSRKTNNHKSPESITKCTEQWKSVLGE	219
h108-158_r (SEQ ID NO:848)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h108-132_r (SEQ ID NO:849)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h133-158_r (SEQ ID NO:850)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h133-145_r (SEQ ID NO:851)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h133-139_r (SEQ ID NO:852)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h140-145_r (SEQ ID NO:853)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h146-158_r (SEQ ID NO:854)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h146-151_r (SEQ ID NO:855)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h152-158_r (SEQ ID NO:856)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h159-219_r (SEQ ID NO:857)	<b>FLIDVEKGVSYCFFAQA VIFSRKTNNHKSPESITKCTEQWKSVLGE</b>	219
h159-189_r (SEQ ID NO:858)	<b>FLIDVEKGVSYCFFAQA VIFSRKTNNHKSPESITKCTEQWKSVLGE</b>	219
h159-174_r (SEQ ID NO:859)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h159-166_r (SEQ ID NO:860)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h167-174_r (SEQ ID NO:861)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
h175-189_r (SEQ ID NO:862)	<b>FLIDVEKGVSYCFFAQA VIFSRKTNNHKSPESITKCTEQWKSVLGE</b>	219
h190-219_r (SEQ ID NO:863)	FLIDVDKGENYCF SVQAVI PSRTVNRKSTDS PVECMGQEKGEFRE	219
	*****: ** . **** . ***** ** . . : ** : * . : * * . : *	

Фиг. 37

```

rTF (SEQ ID NO:838)      -AGTFFGKAENLTWISTDFKTIILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWYKCTGTTDTECDLT 59
hTF (SEQ ID NO:810)      SGTTNTVAAYNLTWKSINFKTIILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYPTDTECDLT 59
r141-194_h (SEQ ID NO:864) -AGTFFGKAENLTWISTDFKTIILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWYKCTGTTDTECDLT 59
      . *      * :**** ** :*****;***.* .***** ;* :** ** *****

rTF (SEQ ID NO:838)      DEIVKDVNWYFYEAVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGEEPPETNARKFLPYRDTKIGQPVIQ 119
hTF (SEQ ID NO:810)      DEIVKDVKQPYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ 119
r141-194_h (SEQ ID NO:864) DEIVRDVNWYFYEAVLSVPWRNSTHGRETLEFGTHGEEPPETNARKFLPYRDTKIGQPVIQ 119
      *****; ** **;* * *      . ** : * : * ** :*:***.**

rTF (SEQ ID NO:838)      KYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRRNGTFLTLRQVFGNDLGYILFYRKDSSTGRKNTNTHTNE 179
hTF (SEQ ID NO:810)      SFEQVGTQVNVFVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE 179
r141-194_h (SEQ ID NO:864) KYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNE 179
      . ;** **;* :***;* . *****;*.***;*.***;*.***;*.***;*.***;*.***;*.***;*.***;*.***

rTF (SEQ ID NO:838)      FLIDVEKGVSYCFFAQAVIFSRKTNHRSPESITKCTEQWKSVLGE 224
hTF (SEQ ID NO:810)      FLIDVDKGENYCFVQAVIFSRIVNRKSTDSFVECMGQERGETRE 225
r141-194_h (SEQ ID NO:864) FLIDVDKGENYCFVQAVIFSRKTNHKSPEITKCTEQWRSVLGE 224
      *****;* * .*** .***** **;.*;** :* .:* * * . : *

```

Фиг. 38

```

HTF (SEQ ID NO:810)          SGTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLT    60
rTF (SEQ ID NO:838)          -AGTPPGKAFNLTWISTDEKFTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSEHWKYKCTGTTDTECDLT    60
HTF_K68N (SEQ ID NO:865)     SGTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLT    60
HTF_K149N (SEQ ID NO:866)    SGTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLT    60
HTF_N171H_T197K (SEQ ID NO:867) SGTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLT    60
. *      *:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*

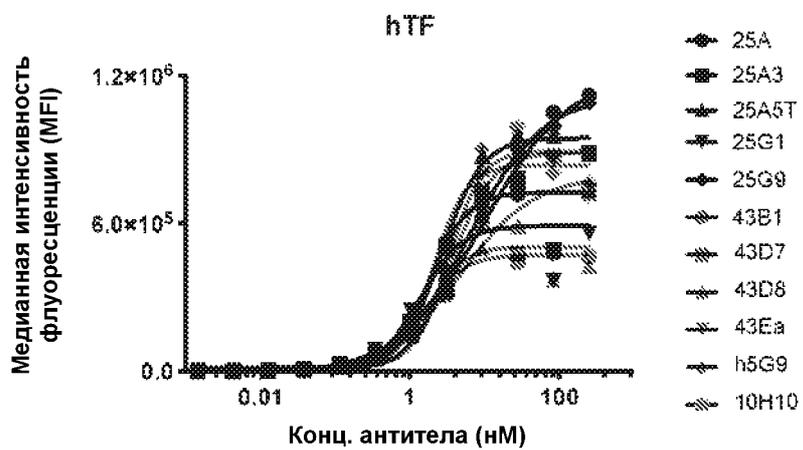
HTF (SEQ ID NO:810)          DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTFYLETNLGQPTIQ    114
rTF (SEQ ID NO:838)          DEIVKDVNWYYEARVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKI GQFVIQ    114
HTF_K68N (SEQ ID NO:865)     DEIVKDVNQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTFYLETNLGQPTIQ    114
HTF_K149N (SEQ ID NO:866)    DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTFYLETNLGQPTIQ    114
HTF_N171H_T197K (SEQ ID NO:867) DEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVEST-----GSAGEPLYENSPEFTFYLETNLGQPTIQ    114
*****: ** *:*:* * * * * . ** : * : * * * :*:***:**

HTF (SEQ ID NO:810)          SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNE    174
rTF (SEQ ID NO:838)          KYEQGGTKLKVTVKDSFTLVKKNGTFLT LRQVFGNDLGYI LTYRKD SSTGRKTNTHTNE    174
HTF_K68N (SEQ ID NO:865)     SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNE    174
HTF_K149N (SEQ ID NO:866)    SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNE    174
HTF_N171H_T197K (SEQ ID NO:867) SFEQVGTQVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNE    174
.:** *:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*

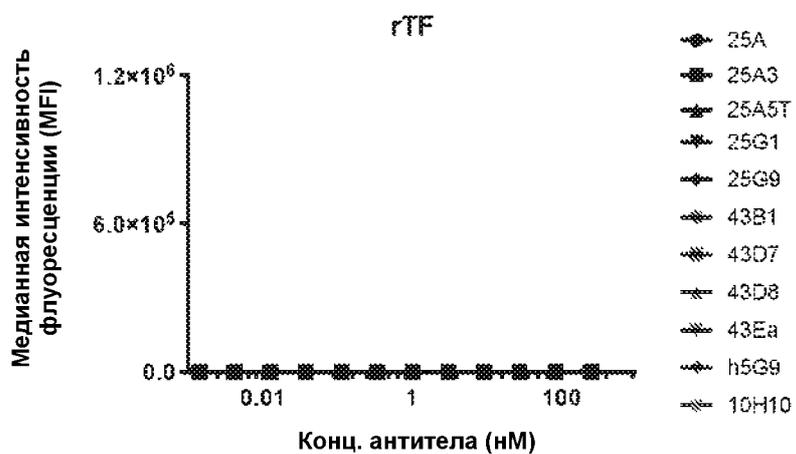
HTF (SEQ ID NO:810)          FLIDVDKGENYCFVQAVIPSRIVNRKSTDSFVECMGQEKGEFRE    219
rTF (SEQ ID NO:838)          FLIDVEKGVSYCFFAQAVIFSRKTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE    219
HTF_K68N (SEQ ID NO:865)     FLIDVDKGENYCFVQAVIPSRIVNRKSTDSFVECMGQEKGEFRE    219
HTF_K149N (SEQ ID NO:866)    FLIDVDKGENYCFVQAVIPSRIVNRKSTDSFVECMGQEKGEFRE    219
HTF_N171H_T197K (SEQ ID NO:867) FLIDVDKGENYCFVQAVIPSRIVNRKSTDSFVECMGQEKGEFRE    219
*****:** *:*:* *:*:* *:*:* *:*:* * * * * * * * * * * * * * * * *

```

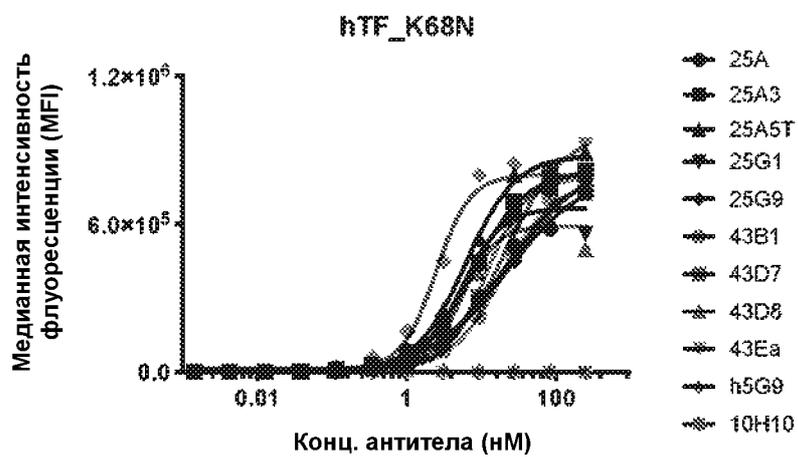
Фиг. 39А



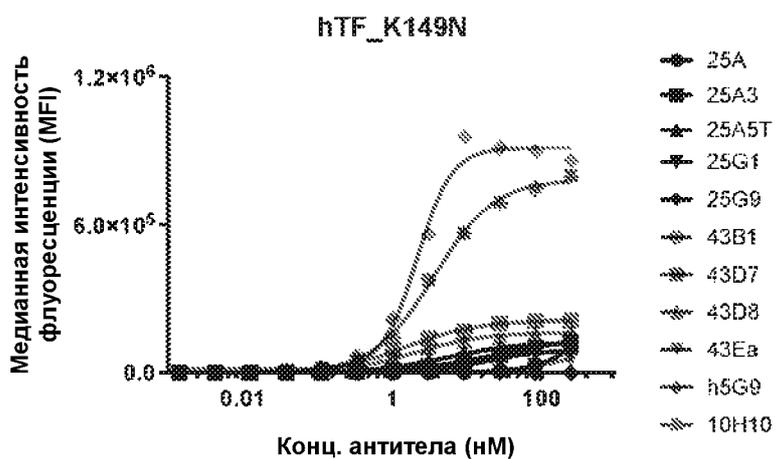
Фиг. 39В



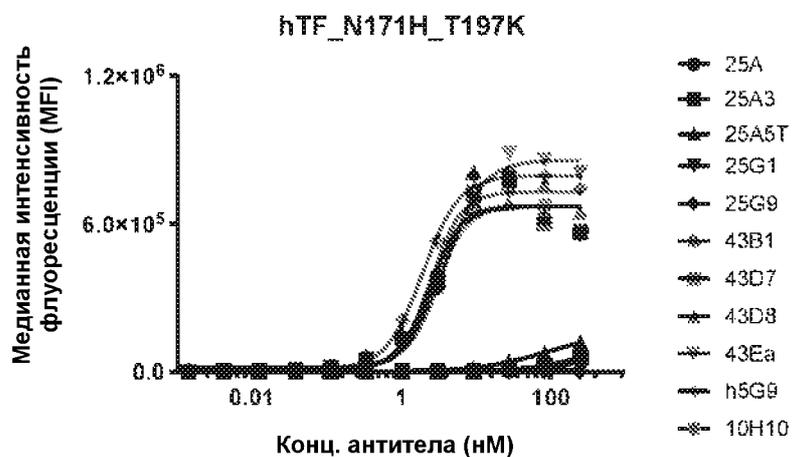
Фиг. 39С



Фиг. 39D



Фиг. 39Е



Фиг. 39F

