(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202192591 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.06.03

(22) Дата подачи заявки
2020.04.24

(51) Int. Cl. ***C12N 15/86*** (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)

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

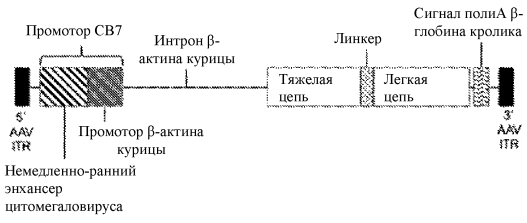
(31) **62/838,165; 62/967,472**
(32) **2019.04.24; 2020.01.29**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/029802**
(87) **WO 2020/219868 2020.10.29**

(71) Заявитель:
РИДЖЕНКСБИО ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Данос Оливье, У Цзучунь, Лю Е, Эверен Шерри Ван, Гернер Франц, Брудер Джозеф, Цяо Чуньпин, Макдугалд Дэвин, Ван Сюй, Гленн Джастин (US)

(74) Представитель:
Джермакян Р.В., Угрюмов В.М., Прищепный С.В., Гизатуллина Е.М., Строкова О.В., Костюшенкова М.Ю., Гизатуллин Ш.Ф., Парамонова К.В. (RU)

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



202192591 A1

202192591 A1

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ПОЛНОСТЬЮ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННО МОДИФИЦИРОВАННЫХ АНТИТЕЛ

0. ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящая заявка содержит Перечень последовательностей, который был представлен в электронном виде в формате ASCII и полностью включен в данную заявку посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 24 апреля 2020 г., называется 38013_0001Pl_SL.txt и имеет размер 690185 байт.

1. ВВЕДЕНИЕ

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

2. ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Терапевтические mAb оказались эффективными при лечении ряда заболеваний и состояний. Однако, поскольку эти агенты являются эффективными только в течение короткого периода времени, часто требуются повторные инъекции в течение длительного времени, что создает значительную нагрузку для пациентов.

3. СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb или HuPTM антигенсвязывающего фрагмента терапевтического mAb (например, полностью гликозилированного организмом человека Fab (HuGlyFab) терапевтического mAb) пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано заболевание или состояние, для которого показано лечение терапевтическим mAb. Такие антигенсвязывающие фрагменты терапевтических mAb включают Fab, $F(ab')_2$ или scFv (одноцепочечный вариабельный фрагмент) (совместно именуемые в настоящем документе как «антигенсвязывающий фрагмент»). Используемый в настоящем документе термин «HuPTM Fab» может включать другие антигенсвязывающие фрагменты mAb. В альтернативном варианте осуществления могут быть использованы полноразмерные mAb. Доставка может быть успешно осуществлена с помощью генной терапии - *например*, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК

конструкции, кодирующей терапевтическое mAb или его антигенсвязывающий фрагмент (или гипергликозилированное производное того и другого), пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано состояние, для которого показано лечение терапевтическим mAb - для создания постоянного депо в ткани или органе пациента, которое непрерывно поставляет HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического mAb, *например*, гликозилированный организмом человека трансгенный продукт, в целевую ткань, где mAb или антигенсвязывающий фрагмент оказывает свое терапевтическое действие.

HuPTM mAb или HuPTM антигенсвязывающий фрагмент, кодируемый трансгеном, может включать, но без ограничения, полноразмерное терапевтическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с:

• *мишенями нервной системы*, включая бета-амилоидные пептиды (Aβ или Abeta), полученные из белка-предшественника амилоида (APP), включая, но без ограничения, соланезумаб, GSK933776 и леканемаб (см. **фиг. 2A-C**), показанные для лечения болезни Альцгеймера; сортилин, включая, но без ограничения, AL-001 (см. **фиг. 3**), для лечения лобно-височной деменции (FTD); тау-белок, вовлеченный в таупатии, включая болезнь Альцгеймера, прогрессирующий надъядерный паралич, FTD, хроническую травматическую энцефалопатию, комплекс Пика, первичную возрастную тауопатию, включая, но без ограничения, ABBV-8E12, UCB-0107 и NI-105 (BIIB076) (см. **фиг. 4A-C**) для лечения таупатий; SEMA4D, включая, но без ограничения, VX15/2503 (см. **фиг. 5**), для лечения болезни Гентингтона и ювенильной болезни Гентингтона; альфа-синуклеин, включая, но без ограничения, празинезумаб, NI-202 (BIIB054) и MED-1341 (см. **фиг. 6A-C**), для лечения болезни Паркинсона и синуклеинопатий; супероксиддисмутазу-1 (SOD-1), включая, но без ограничения, NI-204 (см. **фиг. 7A и B**), для лечения ALS и болезни Альцгеймера; и рецептор CGRP, включая, но без ограничения, эптинезумаб, фреманезумаб и галканезумаб (см. **фиг. 8A-C**), для лечения мигрени и кластерных головных болей;

• *мишенями антиангиогенной терапии глазных заболеваний*, включая, но без ограничения, VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), включая, но без ограничения, севацизумаб (см. **фиг. 9A**), для лечения заболеваний сетчатки, включая диабетическую ретинопатию (DR), миопическую хориоидальную неоваскуляризацию (mCNV), возрастную дегенерацию желтого пятна (AMD) и отек желтого пятна; рецептор эритропоэтина, включая, но без ограничения, LKA-651 (см. **фиг. 9B и C**), предназначенный для лечения заболеваний сетчатки, таких как окклюзия вены

сетчатки (RVO), влажная AMD и отек желтого пятна; амилоидные бета-пептиды (Aβ или Abeta), полученные из белка-предшественника амилоида (APP), включая, но без ограничения, соланезумаб, GSK933776 или леканемаб (см. **фиг. 2A-C**) для лечения сухой AMD; подобной рецептору активина киназы-1 (ALK1), включая, но без ограничения, аскринвакумаб (см. **фиг. 10A**), предназначенный для лечения неоваскулярной возрастной дегенерации желтого пятна; компонент 5 комплемента (C5), включая, но без ограничения, тезидолумаб и равулизумаб (см. **фиг. 10B и 10D**), предназначенный для лечения сухой AMD и неинфекционного увеита, эндоглин (END или CD105), включая, но без ограничения, каротуксимаб (см. **фиг. 10C**), предназначенный для лечения влажной AMD и других заболеваний сетчатки, вызванных повышенной васкуляризацией; компонент 1Q комплемента (C1Q), включая, но без ограничения, ANX-007 (см. **фиг. 11**), предназначенный для лечения глаукомы; и белки-мишени плазмы, такие как белки комплемента человека, включая, но без ограничения, калликреин плазмы (pKal), включая, но без ограничения, ланаделумаб (см. **фиг. 19**), для лечения диабетической ретинопатии и диабетического макулярного отека;

• *компонентом 5 комплемента*, включая, но без ограничения, равулизумаб, предназначенный для лечения миастении Гравис (см. **фиг. 10D**);

• *TNF-альфа*, включая, но без ограничения, адалимумаб (HUMIRA®), инфликсимаб (REMICADE®) и голимумаб, предназначенные для лечения неинфекционного увеита (см. **фиг. 12A-C**);

• *молекулой-А отталкивающего направляющего сигнала*, включая, но без ограничения, елезанумаб (см. **фиг. 13**), предназначенный для лечения рассеянного склероза;

• *транстиретином (TTR),* включая, но без ограничения, NI-301 и PRX-004 (см. **фиг. 14A и B**), предназначенные для лечения амилоидоза;

• *фактором роста соединительной ткани (CTGF)*, включая, но без ограничения, памревлумаб (см. **фиг. 15**), предназначенный для лечения фиброзных заболеваний (например, диабетической нефропатии, фиброза печени, идиопатического фиброза легких);

• *мишенями нейромиелита зрительного нерва (NMO)/неинфекционного увеита*, включая указанные выше антитела, нацеленные на TNF-альфа, и антитела к интерлейкину 6 (IL6) и рецептору интерлейкина 6 (IL6R), включая, но без ограничения, сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб,

герилимзумаб и тоцилизумаб (см. **фиг. 16A-H**), предназначенные для лечения NMO, DR, DME и неинфекционного увеита; и CD19, включая, но без ограничения, инебилизумаб (см. **фиг. 161**), предназначенный для лечения NMO;

• *мишенями иммунного ответа*, включая антитела к интерлейкину 6 (IL6) и рецепторам интерлейкина 6 (IL6R), включая, но без ограничения, сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб и тоцилизумаб (см. **фиг. 16A-H**), предназначенные для лечения неблагоприятных иммунных реакций, таких как синдром высвобождения цитокинов, например, связанных с бактериальными или вирусными инфекциями, и подлежащие введению с агентами, влияющими на иммунитет, такими как CAR-T и другие виды клеточной терапии, и иммуноонкологическими агентами для противодействия, уменьшения или улучшения пагубных иммунных ответов, связанных с такими терапиями;

• *интегрином бета 7*, включая, но без ограничения, этролизумаб (см. **фиг. 17**), предназначенный для лечения язвенного колита и болезни Крона;

• *склеростином*, включая, но без ограничения, ромосозумаб (EVENITY®) (см. **фиг. 18**), предназначенный для лечения остеопороза и аномальной потери костной массы или слабости;

• *мишенями-плазменными белками*, такими как белки комплемента человека, включая, но без ограничения, калликреин плазмы, включая, но без ограничения, ланаделумаб (см. **фиг. 19**), для лечения наследственного ангионевротического отека и глазных показаний, включая диабетическую ретинопатию и диабетический отек желтого пятна; и

• *анти-IL и IL-рецептором* и другими мишенями для аутоиммунных, респираторных и аллергических заболеваний, такими как интерлейкин 5 (IL5), включая, но без ограничения, бенрализумаб (см. **фиг. 29A**); рецептор интерлейкина 5 (IL5R), включая, но без ограничения, реслизумаб (см. **фиг. 29B**); интерлейкин 13 (IL13), включая, но без ограничения, тралокинумаб (см. **фиг. 29C**); рецептор интерлейкина 31 альфа (IL-31RA), включая, но без ограничения, немолизумаб (см. **фиг. 29D**); иммуноглобин E (IgE), включая, но без ограничения, омализумаб (см. **фиг. 29E**); и тимусный стромальный лимфопоэтин (TSLP), включая, но без ограничения, тезепелумаб (см. **фиг. 29F**) или антигенсвязывающие фрагменты.

Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, включает нереплицирующиеся векторы на основе рекомбинантных аденоассоциированных вирусов («rAAV»). Однако могут быть использованы другие вирусные векторы,

включая, но без ограничения, лентивирусные векторы; вирусные векторы осповакцины или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК». Экспрессия трансгена может контролироваться конститутивными или тканеспецифическими элементами контроля экспрессии.

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

Терапевтические антитела, доставляемые генной терапией, имеют несколько преимуществ по сравнению с инъецированными или инфузированными терапевтическими антителами, которые рассеиваются с течение времени, что приводит к пиковым и минимальным уровням. Устойчивая экспрессия антитела трансгенного продукта, в отличие от многократных инъекций антитела, позволяет обеспечить более постоянный уровень антитела в участке действия, и является менее рискованной и более удобной для пациентов, поскольку необходимо делать меньше инъекций. Кроме того, антитела, экспрессируемые из трансгенов, посттрансляционно модифицированы иным способом, чем вводимые напрямую антитела, из-за различия в микроокружении, присутствующем во время и после трансляции. Без привязки к какой-либо конкретной теории, это приводит в результате к антителам, которые имеют различные характеристики диффузии, биологической активности, распределения, аффинности, фармакокинетики и иммуногенности, так что антитела, доставленные к участку действия, являются «биологически улучшенными» по сравнению с напрямую введенными антителами.

Кроме того, антитела, экспрессируемые из трансгенов in vivo, вряд ли будут содержать продукты деградации, связанные с антителами, продуцируемыми рекомбинантными технологиями, такими как агрегация белков и окисление белков.

Агрегация представляет проблему, связанную с получением и хранением белков, обусловленную высокой концентрацией белков, поверхностным взаимодействием с производственным оборудованием и контейнерами, а также очисткой с помощью определенных буферных систем. Эти условия, которые способствуют агрегации, не существуют при экспрессии из трансгена в генной терапии. Окисление, такое как окисление метионина, триптофана и гистидина, также связано с получением и хранением белка, и вызвано стрессовыми условиями культивирования клеток, контактом с металлом и воздухом, а также примесями в буферах и вспомогательных веществах. Белки, экспрессируемые трансгенами in vivo, также могут окисляться в стрессовых условиях. Однако люди и многие другие организмы обладают системой антиоксидантной защиты, которая не только снижает окислительный стресс, но иногда также восстанавливает и/или обращает вспять процесс окисления. Таким образом, белки, продуцируемые in vivo, вряд ли находятся в окисленной форме. Как агрегация, так и окисление могут влиять на эффективность, фармакокинетику (клиренс) и иммуногенность.

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

Изобретение частично основано на следующих принципах:

(i) терапевтические средства на основе mAb, представленные в настоящее время на рынке, характеризуются изотипами иммуноглобулина G (IgG), такими как IgG1, IgG2 и IgG4, которые, как правило, характеризуются фармакокинетическими (PK) характеристиками, такими как медленный клиренс, длительный период полужизни и ограниченное распределение в тканях. После внутривенного введения типичные профили PK mAb в сыворотке являются двухфазными с быстрой фазой распределения и более медленной фазой элиминации; таким образом, требуется повторное введение для поддержания доз, необходимых для лечения хронических состояний. Более того, распространение mAb обычно ограничивается сосудистыми и интерстициальными пространствами из-за их большого размера и гидрофильности. Степень распределения mAb из кровотока в большинстве тканей обычно находится в диапазоне примерно 5-15%, за исключением головного мозга, где оно намного ниже. (*См., например*, публикацию Kamath, 2016, Drug Discovery Today: Technologies 21-22: 75-83, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

Непрерывная продукция HuPTM mAb или HuPTM Fab *in situ* позволяет избежать повторных введений и позволяет использовать Fab, которые в противном случае имели бы слишком короткий системный период полужизни, для достижения эффективности; и описанные способы введения обеспечивают прямой доступ к тканям-мишеням, таким как головной мозг, при этом может быть достигнута доставка более высоких доз в такие ткани;

(ii) Fab-область ряда терапевтических mAb обладает сайтами гликозилирования. Например, см. фиг. 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F, которые идентифицируют консенсусные и неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину («N»), а также остатки глутамина («Q»), которые являются сайтами гликозилирования в Fab-области определенных терапевтических mAb. (*См., например*, публикации Valliere-Douglass et al., 2009, T Biol. Chem. 284: 32493-32506, и Valliere-Douglass et al., 2010, J. Biol. Chem. 285: 16012-16022, каждая из которых полностью включена посредством ссылки для идентификации N-связанных сайтов гликозилирования в антителах). Кроме того, O-гликозилирование предусматривает добавление N-ацетилгалактозамина к остаткам серина или треонина под действием фермента. Было продемонстрировано, что аминокислотные остатки, присутствующие в шарнирной области антител, могут быть O-гликозилированными. Возможность O-гликозилирования дает еще одно преимущество терапевтическим антителам, обеспеченным в настоящем документе, по сравнению, *например*, с антигенсвязывающими фрагментами, продуцируемыми в *E. coli*, опять же, поскольку *E. coli* в природе не содержит механизмов, эквивалентных тем, которые используются при O-гликозилировании у человека. (Напротив, O-гликозилирование в *E. coli* было продемонстрировано только тогда, когда бактерии были модифицированы так, чтобы они содержали специфический механизм O-гликозилирования. *См., например*, Farid-Moayer et al., 2007, J. Bacteriol. 189:8088-8098). Кроме того, аминокислотная последовательность Fab может быть модифицирована для создания гипергликозилированных вариантов (*например*, см. аминокислотные замены, которые могут быть сделаны для создания гипергликозилированных Fab-областей терапевтических антител, показанных на фиг. 20A и 20B; и публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для описания производных антител, которые гипергликозилированы в Fab-домене полноразмерного антитела);

(iii) в дополнение к сайтам гликозилирования, Fab-области могут содержать сайты сульфатирования тирозина («Y») в CDR или рядом с ними; см. фиг. 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F, которые идентифицируют сайты тирозин-O-сульфатирования в Fab-области некоторых терапевтических mAb. (*См., например*, публикацию Yang et al., 2015, Molecules 20:2138-2164 (в частности, в 2154), которая полностью включена посредством ссылки для анализа аминокислот, окружающих остатки тирозина, подвергнутых сульфатированию белка тирозина). «Правила» могут быть обобщены следующим образом: остатки Y с E или D в пределах от +5 до -5 положения Y, и где положение -1 Y представляет собой нейтральную или кислую заряженную аминокислоту, но не основную аминокислоту, *например*, R, K или H, что устраняет сульфатирование;

(iv) гликозилирование Fab-областей, таких как показанные на фиг. 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F, и Fc-областей (см. фиг. 22 и таблицу 7) клетками человека будет приводить к добавлению гликанов, которые могут улучшить стабильность, период полужизни и уменьшить нежелательную агрегацию и/или иммуногенность трансгенного продукта. (*См., например*, Bovenkamp et al., 2016, J. Immunol. 196: 1435-1441 для обзора растущей важности гликозилирования Fab; и фиг. 22, на которой идентифицированы гликаны, которые могут быть присоединены к HuGlyFab (адаптировано из Bondt et al., 2014, Mol & Cell Proteomics 13.1: 3029-2029)). Было показано, что Fab- и Fc-области антител имеют различные паттерны гликозилирования, причем Fab-гликаны обладают высоким уровнем галактозилирования, сиалилирования и деления пополам (*например*, с помощью деления GlcNAc), но низким фукозилированием по отношению к Fc-гликанам. (*Например*, см. публикацию Bondt et al., 2014, Mol. & Cell. Proteomics 13.11:3029-3039, полностью включенную в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов);

(v) что особенно важно, гликаны, которые добавляют к HuPTM mAb и HuGlyFab по изобретению, представляют собой высоко процессированные N-гликаны комплексного типа, которые содержат 2,6-сиаловую кислоту. Такие гликаны не присутствуют в (a) терапевтических mAb, продуцируемых в *E. coli* (которые вообще не гликозилированы); (b) в терапевтических антителах, продуцируемых в клетках CHO, которые не имеют 2,6-сиалилтрансферазы, необходимой для присоединения 2,6-сиаловой кислоты во время гликозилирования; или (c) в терапевтических антителах,

продуцируемых в CHO или мышиных клеточных линиях, которые добавляют N-гликолилнейраминовую кислоту («Neu5Gc» или «NeuGc»), которая не является природной для человека (и потенциально иммуногенной), вместо N-ацетилнейраминовой кислоты («Neu5Ac»), преобладающей сиаловой кислоты человека. *См., например*, публикацию Dumont et al., 2015, Crit. Rev. Biotechnol. 36(6): 1110-1122; Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207 (NeuGc является преобладающей сиаловой кислотой в мышиных клеточных линиях, таких как SP2/0 и NS0); и Song et al., 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки;

(vi) паттерн гликозилирования у человека HuPTM mAb и HuGly Fab по изобретению должен снижать иммуногенность трансгенного продукта и повышать эффективность. Важно, что когда полноразмерные антитела и антигенсвязывающие фрагменты, используемые в соответствии с описанными в настоящем документе способами, экспрессируются в человеческих клетках-мишенях, избегается необходимость продукции *in vitro* в прокариотических клетках-хозяевах (*например*, *E. coli*) или в эукариотических клетках-хозяевах (*например*, клетки CHO или мышиные клетки NS0 или SP2/0). Вместо этого, в результате описанных в настоящем документе способов (*например*, использование человеческих клеток-мишеней для экспрессии антигенсвязывающих фрагментов), сайты N-гликозилирования полноразмерных антител и антигенсвязывающих фрагментов преимущественно декорированы гликанами, подходящими и полезными для лечения людей. Такое преимущество недостижимо, когда в продукции антител/антигенсвязывающих фрагментов используют клетки CHO, мышиные клетки или *E. coli*, так как, *например*, (a) в клетках CHO отсутствуют компоненты, необходимые для добавления определенных гликанов (*например*, 2,6-сиаловая кислота и деление пополам GlcNAc); (b) клетки CHO и мышиные клетки (клетки NSO и SP2/0) добавляют нетипичную для человека Neu5Gc в виде сиаловой кислоты вместо Neu5Ac; (c) клетки CHO также могут продуцировать иммуногенный гликан, антиген α-Gal, который реагирует с антителами против α-Gal, присутствующими у большинства людей, которые при высоких концентрациях могут вызывать анафилаксию (*см.*, *например*, Bosques, 2010, Nat Biotech 28:1153-1156); и (d) *E. coli* в природе не содержит компонентов, необходимых для N-гликозилирования;

(vii) тирозинсульфатирование Fab-областей, таких как показанные на фиг. 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F - устойчивый посттрансляционный процесс во многих

клетках человека - должен приводить к трансгенным продуктам с повышенной авидностью для их молекулярных мишеней. Действительно, было показано, что сульфатирование тирозином Fab антител резко увеличивает авидность к антигену и активность. (*См., например*, Loos et al., 2015, PNAS 112: 12675-12680 и Choe et al., 2003, Cell 114: 161-170). Такие посттрансляционные модификации не присутствуют в терапевтических антителах, полученных в *E. coli* (хозяине, который не обладает ферментами, необходимыми для сульфатирования тирозина), и в лучшем случае недостаточно представлены в терапевтических mAb, полученных в клетках CHO. Клетки CHO не являются секреторными клетками и обладают ограниченной способностью к посттрансляционному сульфатированию тирозина. (*См.*, *например*, Mikkelsen & Ezban, 1991, Biochemistry 30: 1533-1537, особенно обсуждение на стр. 1537).

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

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения полноразмерное HuTPM mAb или HuPTM Fab может быть получен в линиях клеток человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК, и гликопротеин может вводиться пациентам.

Комбинированные терапии, включающие доставку полноразмерного HuPTM mAb или HuPTM Fab пациенту, сопровождаемую введением других доступных методов лечения, охватываются способами, обеспеченными в настоящем документе. Дополнительные способы лечения можно применять до, одновременно или после лечения генной терапией. Такие дополнительные способы лечения могут включать, но без ограничения, совместную терапию с терапевтическим mAb.

Также, обеспечены способы изготовления вирусных векторов, в частности, вирусных векторов на основе AAV. В конкретных вариантах осуществления обеспечены способы получения рекомбинантных AAV, включающие культивирование клетки-хозяина, содержащей искусственный геном, содержащий цис- экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, при этом цис-экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий терапевтическое антитело, функционально связанное с элементами контроля экспрессии, которые будут контролировать экспрессию трансгена в клетках человека; транс-экспрессионную кассету, в которой отсутствуют ITR AAV, причем транс-экспрессионная кассета кодирует белок rep и капсидный белок AAV, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией белка rep и капсидного белка AAV в клетке-хозяине в культуре и обеспечивают белки rep и cap in trans; достаточные хелперные функции аденовируса для репликации и упаковки искусственного генома капсидными белками AAV; и выделение рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственным геномом, из клеточной культуры.

Авторы изобретения также обнаружили, что полноразмерные антитела можно экспрессировать из векторов на основе AAV (см. примеры 36 и 37). Нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую и легкую цепи полноразмерных антител, может быть кодон-оптимизирована для экспрессии в человеческих клетках и может иметь уменьшенное количество димеров CpG в последовательности. Соответственно, обеспечены композиции, содержащие векторы AAV, которые экспрессируют трансген, кодирующий полноразмерную тяжелую цепь (включая Fc-домен) и легкую цепь терапевтического антитела. Также обеспечены способы введения и изготовления.

3.1 ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Композиции

1. Фармацевтическая композиция для лечения болезни Альцгеймера (AD), лобно-височной деменции (FD), таупатий, прогрессирующего надъядерного паралича, хронической травматической энцефалопатии, комплекса Пика и первичной возрастной таупатии, болезни Хантингтона, ювенильной болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, синуклеинопатий, ALS, мигреней или кластерных головных болей у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145), капсида AAVrh20, капсида AAVrh39 или капсида AAVcy5; и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb, представляющее собой моноклональное антитело (mAb) к бета-амилоиду (анти-Aβ), к сортилину, к тау-белку (анти-тау), к семафорину 4D (анти-SEMA4D), к альфа-синуклеину (анти-SNCA), к супероксиддисмутазе-1 (анти-SOD1) или к рецептору кальцитоин-ген-родственного пептида (анти-CGRPR), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека, клетках печени человека и/или мышечных клетках человека;

где указанный AAV-вектор составлен для введения указанному субъекту, необязательно при этом введение представляет собой интратекальное, внутривенное, подкожное, интраназальное или внутримышечное введение.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где анти-Aβ mAb представляет собой соланезумаб, леканемаб или GSK933776; анти-сортилин mAb представляет собой AL-001; анти-тау mAb представляет собой ABBV-8E12, UCB-0107 или NI-105 (BIIB076); анти-SEMA4D mAb представляет собой VX15/2503; анти-SNCA mAb представляет собой празинезумаб, NI-202 (BIIB054) или MED-1341; анти-SOD1 mAb представляет собой NI-2041.10D12 или NI-204.12G7; и анти-CGRPR mAb представляет собой эптинезумаб, фреманезумаб или галканезумаб.

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

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-3, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 290, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 291, и легкую цепь с аминокислотной

последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 360 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 392, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 361; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG4 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 285), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 292, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG4 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 285), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 293, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 294, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 295, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность

SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 25 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 296, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 26; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 27 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 297, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 28; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 29 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 298, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 30.

5. Фармацевтическая композиция по п. 4, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 71, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 72, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 73, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 74, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 376, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 377, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 75, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 76, кодирующую легкую цепь; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 77 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 78; тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 79 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 80; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 81 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 82; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 83 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 84; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 85 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 86; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 87 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 88; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 89 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 90; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 91 и легкую цепь с нуклеотидной

последовательностью SEQ ID NO: 92; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 93 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 94; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 95 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 96; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 97 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 98; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 99 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 100.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-4, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

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

8. Фармацевтическая композиция по п. 7, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTN S (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 2.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, где капсид AAV представляет собой AAV8 или AAV9.

10. Фармацевтическая композиция для лечения заболеваний сетчатки, включая диабетическую ретинопатию, миопическую хориоидальную неоваскуляризацию (mCNV), дегенерацию желтого пятна (например, неоваскулярную (влажную) или сухую возрастную дегенерацию желтого пятна (nAMD)), отек желтого пятна (например, отек желтого пятна после окклюзии вены сетчатки (RVO) или диабетический макулярный отек (DME)), окклюзию вены сетчатки, диабетическую ретинопатию (DR), неинфекционный увеит или глаукому, или аномальную васкуляризацию сетчатки, у субъекта-человека, нуждающегося в этом, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142), капсида

AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb, представляющее собой mAb к фактору роста эндотелия сосудов (анти-VEGF), к рецептору эритропоэтина (анти-EPOR), к Aβ, к подобной рецептору активина киназе-1 (анти-ALK1), к компоненту 5 комплемента (анти-C5), к эндоглину (анти-ENG), к компоненту 1Q комплемента (анти-CC1Q) или к pKal mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для субретинального, интравитреального, интраназального или супрахориоидального введения субъекту.

11. Фармацевтическая композиция по п. 10, где анти-VEGF mAb представляет собой севацизумаб; анти-EPOR mAb представляет собой LKA-651 (NSV2) или LKA-651 (NSV3); анти-Aβ mAb представляет собой соланезумаб, леканемаб или GSK933776; анти-ALK1 mAb представляет собой аскринвакумаб; анти-C5 mAb представляет собой тезидолумаб или равлизумаб; анти-ENG mAb представляет собой каротуксимаб; анти-CC1Q mAb представляет собой ANX-007; и анти-pKal mAb представляет собой ланаделумаб.

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

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 10-12, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 290, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 360 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 392, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 361; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 31 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 299, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 32; или тяжелую цепь с

аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 33 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283) и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 34; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 35 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 36; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 291, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 37 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 300, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 38; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 39 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 301, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 362 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 393, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 363; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 41 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 302, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID НЕТ: 44; или тяжелая цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 314, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70.

14. Фармацевтическая композиция по п. 13, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 71, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 72, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 376, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 377, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 101, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 102, кодирующую легкую цепь; или

нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 103, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 104, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 105, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 106, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 73, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 74, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 107, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 108, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 109, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 110, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 378, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 379, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 111, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 112, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 113, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 114, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 139, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 140, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO 141, 286, 287 или 435-443.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 10-13, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

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

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 2, таблицы 3 или таблицы 4.

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

19. Фармацевтическая композиция для лечения неинфекционного увеита у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142), капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к фактору некроза опухоли-альфа (анти-TNFα) или его антигенсвязывающий фрагмент, по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к компоненту 5 комплемента (C5) или его антигенсвязывающий фрагмент, по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к интерлейкину-6 (IL-6) или его антигенсвязывающий фрагмент, или по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к рецептору интерлейкина-6 (IL-6R) или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для субретинального, интравитреального, интраназального или супрахориоидального введения субъекту.

20. Фармацевтическая композиция по п. 19, где анти-TNFα mAb представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб; анти-C5 mAb представляет собой тезидолумаб или равулизумаб; анти-IL-6 mAb представляет собой силтуксимаб, клазакимзумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб; или анти-IL-6R mAb представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб.

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

22. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 19-21, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 45 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 303, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 46, или SEQ ID NO: 451, 452 или 453; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 47 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 304, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 48; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 49 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 305, и легкую цепь

с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 50; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 39 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 301, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 362 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 393, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 363; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 331 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 355, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 332; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 333 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 356, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 334; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 335 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 357, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 336; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 337 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 358, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 338; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 339 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 340; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 309, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 310, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 341 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 359, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 342.

23. Фармацевтическая композиция по п. 22, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 115, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 116, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 117, кодирующую тяжелую цепь, и

нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 118, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 119, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 120, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 109, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 110, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 378, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 379, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 343, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 344, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 345, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 346, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 347, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 348, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 349, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 350, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 351, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 352, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 130, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 132, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 341, кодирующая тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 342, кодирующую легкую цепь.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 19-22, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

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

26. Фармацевтическая композиция по п. 25, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 2, таблицы 3 или таблицы 4.

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

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

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145), капсида AAVrh20, капсида AAVrh39 или капсида AAVcy5; и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к молекуле-А отталкивающего направляющего сигнала (анти-RGMa), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека, клетках печени человека и/или мышечных клетках человека;

где указанный AAV-вектор составлен для введения субъекту, необязательно при этом введение представляет собой интратекальное, внутривенное, подкожное, интраназальное или внутримышечное введение.

29. Фармацевтическая композиция по п. 28, где анти-RGMa mAb представляет собой елезанумаб.

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

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-30, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 51 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 306, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52.

32. Фармацевтическая композиция по п. 31, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 121, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 122, кодирующую легкую цепь.

33. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-31, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

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

35. Фармацевтическая композиция по п. 34, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 2, таблицы 3 или таблицы 4.

36. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 28-35, где капсид AAV представляет собой AAV9.

37. Фармацевтическая композиция для лечения амилоидоза (ATTR), семейной амилоидной кардиомиопатии (FAC) или семейной амилоидной полинейропатии (FAP) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к транстиретину (анти-TTR), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для подкожного, внутримышечного или внутривенного введения субъекту.

38. Фармацевтическая композиция по п. 37, где анти-TTR mAb представляет собой NI-301 или PRX-004.

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

40. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-39, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 53 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54; или тяжелую

цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 307, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56.

41. Фармацевтическая композиция по п. 40, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 123, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 124, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 125, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 126, кодирующую легкую цепь.

42. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-41, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

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

44. Фармацевтическая композиция по п. 43, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 3 или таблицы 4.

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

46. Фармацевтическая композиция для лечения фиброзных нарушений, легочного фиброза, муковисцидоза (CF), идиопатического легочного фиброза (IPF), цирроза печени, фиброза предсердий, эндомиокардиального фиброза, старого инфаркта миокарда, артрофиброза, болезни Крона, язвенного колита, медиастинального фиброза, миелофиброза (MF), нефрогенного системного фиброза (NSF), прогрессирующего массивного фиброза (PMF) и ретроперитонеального фиброза (RPF) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное

или полноразмерное mAb к фактору роста соединительной ткани (анти-CTGF), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

где указанный AAV-вектор составлен для подкожного, внутримышечного или внутривенного введения субъекту.

47. Фармацевтическая композиция по п. 46, где анти-CTGF mAb представляет собой памревлумаб.

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

49. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 46-48, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 57 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 308, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58.

50. Фармацевтическая композиция по п. 49, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 127, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 128, кодирующую легкую цепь.

51. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 44-50, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

52. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 44-51, где трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

53. Фармацевтическая композиция по п. 52, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 3 или таблицы 4.

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

55. Фармацевтическая композиция для лечения неинфекционного увеита, оптического нейромиелита (NMO), диабетической ретинопатии (DR) или

диабетического макулярного отека (DME) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142), капсида AAV9 (SEQ ID NO : 144) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к рецептору интерлейкина-6 (анти-IL6R), к интерлейкину 6 (IL6) или mAb к кластеру дифференцировки 19 (анти-CD 19), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека;

где указанный AAV-вектор составлен для субретинального, интравитреального, интраназального или супрахориоидального введения субъекту.

56. Фармацевтическая композиция по п. 55, где анти-IL6R mAb представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб, или анти-IL6 mAb представляет собой силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб, или анти-CD19 mAb представляет собой инебилизумаб.

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

58. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55-57, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 309, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 310, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 331 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 355, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 332; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 333 и необязательно полипептид Fc

с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 356, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 334; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 335 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 357, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 336; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 337 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 358, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 338; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 339 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 283, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 340; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 341 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 359, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 342; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 311, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64.

59. Фармацевтическая композиция по п. 58, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 130, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 132, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 343, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 344, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 345, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 346, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 347, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 348, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 349, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 350, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 351, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 352, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 353, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 354, кодирующую легкую цепь; или

нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 133, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 134, кодирующую легкую цепь.

60. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55-59, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

61. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55-60, где трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках сетчатки человека.

62. Фармацевтическая композиция по п. 61, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 2, таблицы 3 или таблицы 4.

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

64. Фармацевтическая композиция для лечения воспалительного заболевания кишечника (IBD), включая UC и CD, у нуждающегося в этом человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к β7-субъединице интегрина (анти-ITGB7), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышечных клетках человека;

где указанный AAV-вектор составлен для подкожного, внутримышечного или внутривенного введения субъекту.

65. Фармацевтическая композиция по п. 64, где анти-ITGB7 mAb представляет собой этролизумаб.

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

67. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 64-66, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 312, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 66.

68. Фармацевтическая композиция по п. 67, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 135, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 136, кодирующую легкую цепь.

69. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 64-68, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант, или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

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

71. Фармацевтическая композиция по п. 70, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 3 или таблицы 4.

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

73. Фармацевтическая композиция для лечения остеопороза или аномальной потери костной массы или слабости (например, лечения гигантоклеточной опухоли кости, лечения потери костной массы, вызванной терапией, замедления потери (или увеличения) костной массы у пациентов с раком молочной железы и предстательной железы, предупреждения связанных со скелетом событий вследствие метастазов в кости, или для уменьшения резорбции и обновления костной ткани у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное

или полноразмерное mAb к склеростину (анти-SOST), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышечных клетках человека;

где указанный AAV-вектор составлен для внутривенного, внутримышечного или подкожного введения субъекту.

74. Фармацевтическая композиция по п. 73, где анти-SOST mAb представляет собой ромосозумаб.

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

76. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 73-75, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 313, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68.

77. Фармацевтическая композиция по п. 76, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 137, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 138, кодирующую легкую цепь.

78. Фармацевтическая композиция по любому из п. 73-77, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

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

80. Фармацевтическая композиция по п. 79, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 3 или таблицы 4.

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

82. Фармацевтическая композиция для лечения ангионевротического отека, включая наследственный ангионевротический отек, у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

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

где указанный AAV-вектор составлен для внутривенного, внутримышечного или подкожного введения субъекту.

83. Фармацевтическая композиция по п. 82, где анти-pKal mAb представляет собой ланаделумаб.

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

85. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 82-84, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 314, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70.

86. Фармацевтическая композиция по п. 85, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 139, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 140, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO 141, 286, 287 или 435-443.

87. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 82-85, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

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

89. Фармацевтическая композиция по п. 88, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 3 или таблицы 4.

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

Способ лечения

91. Способ лечения болезни Альцгеймера (AD), лобно-височной деменции (FD), таупатий, прогрессирующего надъядерного паралича, хронической травматической энцефалопатии, комплекса Пика и первичной возрастной таупатии, болезни Хантингтона, ювенильной болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, синуклеопатий. ALS, мигреней или кластерных головных болей у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в спинномозговую жидкость (CSF) указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к бета-амилоиду (анти-Aβ), к сортилину, к тау-белку (анти-тау), к семафорину 4D (анти-SEMA4D), к альфа-синуклеину (анти-SNCA), к супероксиддисмутазе-1 (анти-SOD1) или к рецептору кальцитонин-ген-родственного пептида (анти-CGRPR), или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками ЦНС человека.

92. Способ лечения болезни Альцгеймера, лобно-височной деменции (FD), таупатий, прогрессирующего надъядерного паралича, хронической травматической энцефалопатии, комплекса Пика и первичной возрастной таупатии, болезни Хантингтона, ювенильной болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, синуклеинопатий, ALS, мигреней или кластерных головных болей у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий:

введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к бета-амилоиду (анти-Aβ), к сортилину, к тау-белку (анти-тау), к семафорину 4D (анти-SEMA4D), к альфа-синуклеину (анти-SNCA), к супероксиддисмутазе-1 (анти-SOD1) или к рецептору кальцитонин-ген-родственного пептида (анти-CGRPR), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека, так что образуется депо, которое высвобождает человеческую

посттрансляционно модифицированную (HuPTM) форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

93. Способ по пп. 91 или 92, где анти-Aβ mAb представляет собой соланезумаб, леканемаб или GSK933776; анти-сортилин mAb представляет собой AL-001; анти-тау mAb представляет собой ABBV-8E12, UCB-0107 или NI-105 (BIIB076); анти-SEMA4D mAb представляет собой VX15/2503; анти-SNCA mAb представляет собой празинезумаб, NI-202 (BIIB054) или MED-1341; анти-SOD1 mAb представляет собой NI-2041.10D12 или NI-204.12G7; и анти-CGRPR mAb представляет собой эптинезумаб, фреманезумаб или галканезумаб.

94. Способ по любому из пп. 91-93, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

95. Способ по любому из пп. 91-94, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 290, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 292, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 360 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 392 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 361; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG4 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 285), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 292, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; или тяжелую

цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG4 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 285), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 293, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 294, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 295, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23 и необязательно полипептид Fc изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 25 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 296, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 26; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 27 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 297 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 28; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 29 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 298, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 30.

96. Способ по п. 95, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 71, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 72, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 73, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 74, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 376, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 377, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную

последовательность SEQ ID NO: 75, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 76, кодирующую легкую цепь; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 77 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 78; тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 79 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 80; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 81 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 82; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 83 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 84; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 85 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 86; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 87 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 88; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 89 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 90; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 91 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 92; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 93 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 94; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 95 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 96; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 97 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 98; или тяжелую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 99 и легкую цепь с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 100.

97. Способ по любому из пп. 91-95, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

98. Способ по любому из пп. 91-97, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-**сиалилированный** гликан.

99. Способ по любому из пп. 91-98, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc и/или α-Gal.

100. Способ по любому из пп. 91-99, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

101. Способ по любому из пп. 92-100, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV9.

102. Способ по любому из пп. 92-101, в котором продуцирование указанной формы HuPTM указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток ЦНС человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

103. Способ лечения диабетической ретинопатии, миопической хориоидальной неоваскуляризации (mCNV), дегенерации желтого пятна (например, неоваскулярной (влажной) или сухой возрастной дегенерации желтого пятна (nAMD)), отека желтого пятна (например, отека желтого пятна после окклюзии вены сетчатки (RVO) или диабетический макулярный отек (DME)), RVO, диабетической ретинопатия (DR), неинфекционного увеита, глаукомы или аномальной васкуляризации сетчатки у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку к сетчатке указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к васкулярному фактору роста эндотелия (анти-VEGF), к рецептору эритропоэтина (анти-EPOR), к Aβ, к подобной рецептору антиактивина киназы-1 (анти-ALK1), к компоненту 5 комплемента (анти-C5), к эндоглину (анти-ENG), к компоненту 1Q комплемента (анти-CC1Q)) или к pKal, или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками сетчатки человека.

104. Способ лечения диабетической ретинопатии, миопической хориоидальной неоваскуляризации (mCNV), дегенерации желтого пятна (например, неоваскулярной (влажной) или сухой возрастной дегенерации желтого пятна (nAMD)), отека желтого пятна (например, отека желтого пятна после окклюзии вены сетчатки (RVO) или диабетического макулярного отека (DME)), RVO, диабетической ретинопатии (DR), неинфекционного увеита, глаукомы или аномальной васкуляризации сетчатки у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий:

введение в сетчатку указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к сосудистому эндотелиальному фактору роста (анти-VEGF), к рецептору эритропоэтина (анти-

EPOR), к Aβ, к подобной рецептору активина киназе-1 (анти-ALK1), к компоненту 5 комплемента (анти-C5), к эндоглину (анти-ENG), к компоненту 1Q комплемента (анти-CC1Q), или к pKal, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

105. Способ по п. 103 или 104, где анти-VEGF mAb представляет собой севацизумаб; анти-EPOR mAb представляет собой LKA-651 (NSV2) или LKA-651 (NSV3); анти-Aβ mAb представляет собой соланезумаб, леканемаб или GSK933776; анти-ALK1 mAb представляет собой аскринвакумаб; анти-C5 mAb представляет собой тезидолумаб или равулизумаб; анти-ENG mAb представляет собой каротуксимаб; анти-CC1Q mAb представляет собой ANX-007; и анти-pKal mAb представляет собой ланаделумаб.

106. Способ по любому из пп. 103-105, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, F(ab')2 или scFv.

107. Способ по любому из пп. 103-106, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID. NO: 290, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 360 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 392, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 361; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 31 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 299, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 32; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 33 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 34; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 35 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 36; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID

NO: 291, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 37 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 300, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 38; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 39 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 301, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 362 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 393, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 363; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 41 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 302, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 314, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70.

108. Способ по параграфу 107, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 71, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 72, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 376, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 377, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 101, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 102, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 103, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 104, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 105, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 106, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 73, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 74, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 107, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 108, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную

последовательность SEQ ID NO: 109, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 110, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 378, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 379, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 111, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 112, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 113, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 114, кодирующую легкую цепь, или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 141, 286, 287 или 435-443.

109. Способ по любому из пп. 103-105, где mAh или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

110. Способ по любому из пп. 103-109, где mAh или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

111. Способ по любому из пп. 103-110, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

112. Способ по любому из пп. 103-111, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

113. Способ по любому из пп. 104-112, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV2.7m8, AAV8 или AAV9.

114. Способ по любому из пп. 104-113, где продуцирование указанной HuPTM формы mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток сетчатки человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

115. Способ лечения неинфекционного увеита у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в сетчатку указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к фактору некроза опухоли-альфа (анти-TNFα) или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками сетчатки человека.

116. Способ лечения неинфекционного увеита у субъекта-человека, нуждающегося в этом, включающий:

введение в сетчатку указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к фактору некроза опухоли-альфа (анти-TNFα) или его антигенсвязывающий фрагмент, по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к компоненту 5 комплемента (C5) или его антигенсвязывающий фрагмент, по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к интерлейкину-6 (IL-6) или его антигенсвязывающий фрагмент, по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к рецептору интерлейкина-6 (IL-6R) или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или антигенсвязывающего фрагмента.

117. Способ по пп. 115 или 116, где анти-TNFα mAb представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб, анти-C5 mAb представляет собой тезидолумаб или равулизумаб; анти-IL-6 mAb представляет собой силтуксимаб, клазакимзумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб; или анти-IL-6R mAb представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб.

118. Способ по любому из пп. 115-117, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

119. Способ по любому из пп. 115-118, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 45 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID. NO: 303, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 46; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 47 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 304, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 48; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 49 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 305; и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 50; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 39 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 301, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40; тяжелую цепь с

аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 362 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 393, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 363; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 331 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 355, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 332; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 333 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 356, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 334; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 335 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 357, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 336; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 337 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 358, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 338; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 339 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 340; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 309, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 310, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 341 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 359, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 342.

120. Способ по п. 119, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 115, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 116, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 117, кодирующая тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 118, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 119, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 120, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 109, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную

последовательность SEQ ID NO: 110, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 378, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 379, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 343, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 344, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 345, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 346, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 347, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 348, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 349, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 350, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 351, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 352, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 130, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 132, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 341, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 342, кодирующую легкую цепь.

121. Способ по любому из пп. 115-118, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

122. Способ по любому из пп. 115-121, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

123. Способ по любому из пп. 115-122, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

124. Способ по любому из пп. 115-123, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

125. Способ по любому из пп. 116-124, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV2.7m8, AAV8 или AAV9.

126. Способ по любому из пп. 116-125, в котором получение HuPTM формы mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток сетчатки человека в культуре с помощью указанного

рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

127. Способ лечения рассеянного склероза у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в спинномозговую жидкость (CSF) указанного человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к молекуле-А отталкивающего направляющего сигнала (анти-RGMa) или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками ЦНС человека.

128. Способ лечения рассеянного склероза у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий:

введение в ЦНС указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к молекуле-А отталкивающего направляющего сигнала (анти-RGMa), или антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

129. Способ по пп. 127 или 128, где mAb к RGMa представляет собой елезанумаб.

130. Способ по любому из пп. 127-129, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

131. Способ по любому из пп. 127-130, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 51 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID. NO: 306, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52.

132. Способ по п. 131, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 121, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 122, кодирующую легкую цепь.

133. Способ по любому из пп. 127-131, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

134. Способ по любому из пп. 127-133, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

135. Способ по любому из пп. 127-134, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

136. Способ по любому из пп. 127-135, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

137. Способ по любому из пп. 128-136, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV9.

138. Способ по любому из пп. 128-136, в котором продуцирование HuPTM формы указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток ЦНС человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

139. Способ лечения амилоидоза (ATTR), семейной амилоидной кардиомиопатии (FAC) или семейной амилоидной полинейропатии (FAP) у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к транстиретину (анти-TTR) или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками печени или мышечными клетками человека.

140. Способ лечения астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий:

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

141. Способ по пп. 139 или 140, где анти-TTR mAb представляет собой NI-301 или PRX-004.

142. Способ по любому из пп. 139-141, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, F(ab')2 или scFv.

143. Способ по любому из пп. 139-142, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 53 и необязательно полипептид Fc-области изотипа IgG1 (например, аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 283), и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 307, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56.

144. Способ по п. 143, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 123, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 124, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 125, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 126, кодирующую легкую цепь.

145. Способ по любому из пп. 139-143, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

146. Способ по любому из пп. 139-145, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

147. Способ по любому из пп. 139-146, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

148. Способ по любому из пп. 139-147, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

149. Способ по любому из пп. 140-148, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

150. Способ по любому из пп. 140-149, в котором продуцирование указанной HuPTM формы указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток печени человека или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

151. Способ лечения фиброзных нарушений, включая фиброз легких, муковисцидоз (CF), идиопатический фиброз легких (IPF), цирроз печени, фиброз предсердий, эндомиокардиальный фиброз, старый инфаркт миокарда, артрофиброз, болезнь Крона, фиброз средостения, миелофиброз (MF), нефрогенный системный

фиброз (NSF), прогрессирующий массивный фиброз (PMF) и ретроперитонеальный фиброз (RPF) у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к фактору роста соединительной ткани (анти-CTGF) или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

152. Способ лечения фиброзных нарушений, включая фиброз легких, муковисцидоз (CF), идиопатический фиброз легких (IPF), цирроз печени, фиброз предсердий, эндомиокардиальный фиброз, старый инфаркт миокарда, артрофиброз, болезнь Крона, фиброз средостения, миелофиброз (MF), нефрогенный системный фиброз (NSF), прогрессирующий массивный фиброз (PMF) и ретроперитонеальный фиброз (RPF) у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к фактору роста соединительной ткани (анти-CTGF), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

153. Способ по пп. 151 или 152, где анти-CTGF mAb представляет собой памревлумаб.

154. Способ по любому из пп. 151-153, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

155. Способ по любому из пп. 151-154, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент включает тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 57 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ. ID NO: 308, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58.

156. Способ по п. 155, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 127, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 128, кодирующую легкую цепь.

157. Способ по любому из пп. 151-155, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант, или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

158. Способ по любому из пп. 151-157, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

159. Способ по любому из пп. 151-158, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

160. Способ по любому из пп. 151-159, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

161. Способ по любому из пп. 152-160, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

162. Способ по любому из пп. 152-161, в котором продуцирование указанной HuPTM формы mAb или ее антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток печени или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

163. Способ лечения неинфекционного увеита, оптического нейромиелита (NMO), диабетической ретинопатии (DR) или диабетического макулярного отека (DME) у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку к сетчатке указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к рецептору интерлейкина-6 (анти-IL6R), mAb к интерлейкину-6 (IL6) или mAb к кластеру дифференцировки 19 (анти-CD19), или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками сетчатки человека.

164. Способ лечения неинфекционного увеита, оптического нейромиелита (NMO), диабетической ретинопатии (DR) или диабетического макулярного отека (DME) у субъекта-человека, нуждающегося в этом, включающий:

введение в сетчатку указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к рецептору интерлейкина-6 (анти-IL6R), mAb к интерлейкину-6 (IL6) или mAb к кластеру дифференцировки 19 (анти-CD19), или его антигенсвязывающего фрагмента, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека, так что что

образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

165. Способ по п. 163 или 164, где анти-IL6R представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб, или mAb к IL6 представляет собой силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб, или анти-CD19 mAb представляет собой инебилизумаб.

166. Способ по любому из пп. 163-165, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

167. Способ по любому из пп. 163-166, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID. NO: 309, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 310, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 341 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 359, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 342; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 331 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 355, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 332; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 333 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 356, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 334; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 335 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 357, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 336; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 337 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 358, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 338; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 339 и необязательно полипептид Fc IgG1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 283, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 340; или тяжелую цепь с

аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 341 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 359, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 342; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 311, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64.

168. Способ по п. 167, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 130, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 132, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 343, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 344, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 345, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 346, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 347, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 348, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 349, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 350, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 351, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 352, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 353, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 354, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 133, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 134, кодирующую легкую цепь.

169. Способ по любому из пп. 163-167, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

170. Способ по любому из пп. 163-168, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

171. Способ по любому из пп. 163-169, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

172. Способ по любому из пп. 163-170, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

173. Способ по любому из пп. 164-171, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8, AAV2.7m8 или AAV9.

174. Способ по любому из пп. 164-172, в котором продуцирование указанной HuPTM формы указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток сетчатки человека в культуре с помощью указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

175. Способ лечения воспалительного заболевания кишечника (IBD), включая UC и CD, у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к β7-субъединицые интегрина (анти-ITGB7) или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

176. Способ лечения воспалительного заболевания кишечника (IBD), включая UC и CD, у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий:

введение в печень или мышцу указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к β7-субъединице интегрина (анти-ITGB7) или антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

177. Способ по пп. 175 или 176, где анти-ITGB7 mAb представляет собой этролизумаб.

178. Способ по любому из пп. 175-177, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

179. Способ по любому из пп. 175-178, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 312, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 66.

180. Способ по п. 179, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 135, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 136, кодирующую легкую цепь.

181. Способ по любому из пп. 175-179, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

182. Способ по любому из пп. 175-181, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

183. Способ по любому из пп. 175-182, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

184. Способ по любому из пп. 175-183, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

185. Способ по любому из пп. 176-184, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

186. Способ по любому из пп. 176-185, в котором продуцирование указанной HuPTM формы указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток печени человека или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

187. Способ лечения системного остеопороза или аномальной потери костной массы или слабости (например, лечения гигантоклеточной опухоли кости, лечения потери костной массы, вызванной терапией, замедления потери (или увеличения) костной массы у пациентов с раком молочной железы и предстательной железы, предупреждения связанных со скелетом событий вследствие метастазов в кости, или для уменьшения резорбции и обновления костной ткани у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к склеростину (анти-SOST) или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

188. Способ лечения системного остеопороза или аномальной потери костной массы или слабости (например, лечения гигантоклеточной опухоли кости, лечения потери костной массы, вызванной терапией, замедления потери (или увеличения) костной массы у пациентов с раком молочной железы и предстательной железы, предупреждения связанных со скелетом событий вследствие метастазов в кости, или

для уменьшения резорбции и обновления костной ткани у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий:

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

189. Способ по п. 187 или 188, где анти-SOST mAb представляет собой ромосозумаб.

190. Способ по любому из пп. 187-189, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

191. Способ по любому из пп. 187-190, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 313, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68.

192. Способ по п. 191, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 137, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 138, кодирующую легкую цепь.

193. Способ по любому из пп. 187-191, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

194. Способ по любому из пп. 187-193, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

195. Способ по любому из пп. 187-194, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

196. Способ по любому из пп. 187-195, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

197. Способ по любому из пп. 188–196, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

198. Способ по любому из пп. 188–196, в котором продуцирование указанной HuPTM формы указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток печени человека или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

199. Способ лечения ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb к калликреину (анти-pKal) или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого мышечными клетками человека или клетками печени человека.

200. Способ лечения ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающего:

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

201. Способ по п. 199 или 200, где анти-pKal mAb представляет собой ланаделумаб.

202. Способ по любому из пп. 199-201, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

203. Способ по любому из пп. 199-202, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 314, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70.

204. Способ по п. 203, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 139, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 140, кодирующую легкую цепь.

205. Способ по любому из п. 199-203, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

206. Способ по любому из пп. 199-205, в котором mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

207. Способ по любому из пп. 199-206, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

208. Способ по любому из пп. 199-207, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

209. Способ по любому из пп. 200-208, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

210. Способ по любому из пп. 200-209, в котором продуцирование указанной HuPTM формы указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток печени или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способ изготовления

211. Способ получения рекомбинантных AAV, включающий:

(a) культивирование клетки-хозяина, содержащей:

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

(ii) *транс*-экспрессионную кассету, в которой отсутствуют инвертированные концевые повторы (ITR) AAV, где *транс*-экспрессионная кассета кодирует rep AAV и капсидный белок AAV, функционально связанную с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией rep AAV и капсидного белка AAV в клетке-хозяине в культуре, и обеспечивают rep AAV и капсидный белок AAV in trans;

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

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

212. Способ по п. 211, где трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей соланезумаба, леканемаба, GSK933776, AL-001, ABBV-8E12, UCB-0107, NI-105 (BPB076), VX15/2503, празинезумаба, NI-202 (BPB054), MED-1341, NI-2041.10D12, NI-204.12G7, эптинезумаба, фреманезумаба, галканезумаба или елезанумаба.

213. Способ по п. 212, где капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5.

214. Способ по п. 211, где трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей севацизумаба, LKA-651 (NSV2), LKA-651 (NSV3), GSK933776, соланезумаба, леканемаба, аскринвакумаба, тезидолумаба, равулизумаба, каротуксимаба, ANX-007, ланаделумаба, адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба, сатрализумаба, сарилумаба, тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилимзумаба или инебилизумаба.

215. Способ по п. 214, где капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV2.7m8, AAV8 или AAV9.

216. Способ по п. 211, где трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей NI-301, PRX-004, памревлумаба, этролизумаба, ромосозумаба или ланаделумаба.

217. Способ по п. 216, где капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV8, AAV9 или AAVrh10.

218. Способ по п. 211, где трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное mAb.

Аутоиммунные, респираторные и аллергические заболевания

Композиции

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

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb к IL13 или к IL31RA, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

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

220. Фармацевтическая композиция по п. 219, в которой антитело против IL13 или IL31RA представляет собой тралокинумаб или немолизумаб.

221. Фармацевтическая композиция по пп. 219 или 220, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

222. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 219-221, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 368 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 396, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 369; или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 370 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 397, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 371.

223. Фармацевтическая композиция по п. 222, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 384, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 385, кодирующую легкую цепь; или трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 386, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 387, кодирующую легкую цепь.

224. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 219-221, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

225. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 219-224, где трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и

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

226. Фармацевтическая композиция по пункту 225, где указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

227. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 219-226, где AAV-капсид представляет собой является AAV8.

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

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-IL5R mAb или анти-IgE mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

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

229. Фармацевтическая композиция по п. 228, где анти-IL5R mAb или анти-IgE mAb представляет собой реслизумаб или омализумаб.

230. Фармацевтическая композиция по пп. 228 или 229, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

231. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 228-230, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 364 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 394, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 365; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 372 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 398, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 373.

232. Фармацевтическая композиция по п. 231, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 380, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 381, кодирующую легкую цепь; или

нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 388, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 389, кодирующую легкую цепь.

233. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 228-231, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

234. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 228-233, где трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, который направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

235. Фармацевтическая композиция по п. 234, где указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

236. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 228-235, где капсид AAV представляет собой AAV8.

237. Фармацевтическая композиция для лечения астмы или хронического обструктивного заболевания легких (COPD) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-IL5, анти-IL-5R, анти-IgE или анти-TSLP mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

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

238. Фармацевтическая композиция по п. 237, где анти-IL-5, анти-IL5R, анти-IgE или анти-TSLP mAb представляет собой бенрализумаб, реслизумаб, омализумаб или тезепелумаб.

239. Фармацевтическая композиция по пп. 237 или 238, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

240. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 237-239, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 364 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 394, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 365; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 366 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 395, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 367; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 372 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 373; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 374 и необязательно полипептид Fc-области IgG2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 284, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 375.

241. Фармацевтическая композиция по п. 240, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 380, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 381, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 382, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 383, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 388, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 389, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 390, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 391, кодирующую легкую цепь.

242. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 237-240, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

243. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 237-242, где трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

244. Фармацевтическая композиция по п. 243, где указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

245. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 237–244, где капсид AAV представляет собой AAV8.

246. Фармацевтическая композиция для лечения хронической идиопатической крапивницы у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

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

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

247. Фармацевтическая композиция по п. 246, где анти-IgE mAb представляет собой омализумаб.

248. Фармацевтическая композиция по пп. 246 или 247, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

249. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 246-248, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 372 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 398, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 373.

250. Фармацевтическая композиция по п. 249, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 388, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 389, кодирующую легкую цепь.

251. Фармацевтическая композиция по любому из п. 246-249, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

252. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 246-251, где трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, который направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

253. Фармацевтическая композиция по п. 252, где указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

Фармацевтическая композиция по любому из пп. 246-253, где капсид AAV представляет собой AAV8.

Способ лечения

254. Способ лечения атопического дерматита у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества анти-IL13 или анти-IL31RA mAb, или его антигенсвязывающего фрагмента, продуцируемого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

255. Способ лечения атопического дерматита у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий: введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий анти-IL13 или анти-IL31RA mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

256. Способ по п. 254 или 255, где анти-IL13 или анти-IL31RA mAb представляет собой тралокинумаб или немолизумаб.

257. Способ по любому из пп. 254-256, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

258. Способ по любому из пп. 254-257, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 368 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 396, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 369; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 370 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 397, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 371.

259. Способ по п. 258, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 384, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 385, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную

последовательность SEQ ID NO: 386, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 387, кодирующую легкую цепь.

260. Способ по любому из пп. 254-258, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

261. Способ по любому из пп. 254-260, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

262. Способ по любому из пп. 254-261, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

263. Способ по любому из пп. 254-262, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

264. Способ по любому из пп. 254-263, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

265. Способ по любому из пп. 254-264, в котором продуцирование указанной HuPTM формы mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток печени или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

266. Способ лечения эозинофильной астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества анти-IL5R или анти-IgE mAb или его антигенсвязывающего фрагмента, продуцируемого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

267. Способ лечения эозинофильной астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий: введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий анти-IL5R или анти-IgE mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

268. Способ по пп. 266 или 267, где анти-IL5R или анти-IgE mAb представляет собой реслизумаб или омализумаб.

269. Способ по любому из пп. 266-268, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

270. Способ по любому из пп. 266-269, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 366 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 395, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 367; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 372 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 398, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 373.

271. Способ по п. 270, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 382, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 383, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 388, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 389, кодирующую легкую цепь.

272. Способ по любому из пп. 266-270, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

273. Способ по любому из пп. 266-272, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

274. Способ по любому из пп. 266-273, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

275. Способ по любому из пп. 266-274, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

276. Способ по любому из пп. 266-275, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

277. Способ по любому из пп. 266-276, в котором продуцирование указанной HuPTM формы mAb или ее антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

278. Способ лечения астмы или COPD у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества анти-IL5, анти-IL5R, анти-IgE или анти-TSLP mAb или его антигенсвязывающего фрагмента, продуцируемого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

279. Способ лечения эозинофильной астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий: введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий анти-IL5R, анти-IL5, анти-IgE или анти-TSLP mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

280. Способ по пп. 278 или 279, где анти-IL5R, анти-IL5, анти-IgE или анти-TSLP mAb представляет собой бенрализумаб, реслизумаб, омализумаб или тезепелумаб.

281. Способ по любому из пп. 278-280, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

282. Способ по любому из пп. 278-281, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 364 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 394, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 365; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 366 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 395, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 367; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 372 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 398 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 373; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 374 и необязательно полипептид Fc-области IgG2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 284, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 375.

283. Способ по п. 282, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 380, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 381, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 383, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 383, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 388, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную

последовательность SEQ ID NO: 389, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 390, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 391, кодирующую легкую цепь.

284. Способ по любому из пп. 278-283, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

285. Способ по любому из пп. 278-284, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

286. Способ по любому из пп. 278-285, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

287. Способ по любому из пп. 278-286, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

288. Способ по любому из пп. 278-287, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

289. Способ по любому из пп. 278-288, в котором продуцирование указанной HuPTM формы mAb или ее антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

290. Способ лечения хронической идиопатической крапивницы у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества анти-IgE mAb или его антигенсвязывающего фрагмента, продуцируемого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

291. Способ лечения эозинофильной астмы у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий: введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий анти-IgE mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

292. Способ по п. 290 или 291, где анти-IgE mAb представляет собой омализумаб.

293. Способ по любому из пп. 290-292, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

294. Способ по любому из пп. 290-293, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 372 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 398, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 373.

295. Способ по п. 294, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 388, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 389, кодирующую легкую цепь.

296. Способ по любому из пп. 290-295, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

297. Способ по любому из пп. 290-296, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

298. Способ по любому из пп. 290-297, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

299. Способ по любому из пп. 290-298, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

300. Способ по любому из пп. 290-299, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

301. Способ по любому из пп. 290-300, в котором продуцирование указанной HuPTM формы mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдукции клеток печени или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способ изготовления

302. Способ по п. 211, где трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей бенрализумаба, реслизумаба, тралокинумаба, немолизумаба, омализумаба или тезепелумаба.

303. Способ по п. 302, где капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV8, AAV9 или AAVrh10.

Миастения Гравис

Композиции

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

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-C5 mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетки печени человека или мышечных клеток человека;

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

305. Фармацевтическая композиция по п. 304, где анти-C5 представляет собой равулизумаб.

306. Фармацевтическая композиция по пп. 304 или 305, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

307. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 304-306, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 362 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 393, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 363.

308. Фармацевтическая композиция по п. 307, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 378, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 379, кодирующую легкую цепь.

309. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 304-308, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

310. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 304-310, где трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, который направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

311. Фармацевтическая композиция по п. 310, где указанная сигнальная последовательность выбрана из сигнальных последовательностей в таблице 2 или 3.

312. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 304-311, где капсидом AAV является AAV8.

Способ лечения

313. Способ лечения миастении у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток указанного человека терапевтически эффективного количества анти-C5 mAb или его антигенсвязывающего фрагмента, продуцируемого клетками печени человека или мышечными клетками человека.

314. Способ лечения миастении Гравис у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий: введение в печень или мышцу указанного субъекта терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий анти-C5 mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM форму указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

315. Способ по п. 313 или 314, где анти-C5 представляет собой равулизумаб.

316. Способ по любому из пп. 313-315, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

317. Способ по любому из пп. 313-316, где антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 362 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 393 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 363.

318. Способ по п. 260, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 378, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 379, кодирующую легкую цепь.

319. Способ по любому из пп. 313-318, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант.

320. Способ по любому из пп. 313-319, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

321. Способ по любому из пп. 313-320, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

322. Способ по любому из пп. 313-321, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

323. Способ по любому из пп. 313-322, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

324. Способ по любому из пп. 313-323, в котором продуцирование указанной HuPTM формы mAb или ее антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток печени или мышечных клеток человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способ изготовления

325. Способ по п. 211, где трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит вариабельные домены тяжелой и легкой цепей равулизумаба.

326. Способ по п. 304, где капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV8, AAV9 или AAVrh10.

Композиции и способы подавления иммунного ответа

327. Фармацевтическая композиция для снижения, ингибирования или ослабления вредного иммунного ответа у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к рецептору интерлейкина-6 (анти-IL6R) или к интерлейкину-6 (IL6), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышечных клетках человека;

где указанный AAV-вектор составлен для подкожного, внутримышечного, внутривенного или пульмонального введения субъекту.

328. Фармацевтическая композиция по п. 327, где анти-IL6R mAb представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб, или анти-IL6 mAb

представляет собой силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб.

329. Фармацевтическая композиция по пп. 327 или 328, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, F(ab')2 или scFv.

330. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 327-329, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью. SEQ ID NO: 309, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 310, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 331 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 355, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 332; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 333 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 356, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 334; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 335 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 357, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 336; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 337 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 358 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 338; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 339 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 283, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 340; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 341 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 359, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 342.

331. Фармацевтическая композиция по п. 330, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 130, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную

последовательность SEQ ID NO: 132, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 343, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 344, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 345, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 346, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 347, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 348, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 349, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 350, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 351, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 352, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 353, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 354, кодирующую легкую цепь.

332. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 327-331, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

333. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 327-331, где трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, который направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках печени человека или мышечных клетках человека.

334. Фармацевтическая композиция по п. 333, где указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальную последовательность из таблицы 3 или таблицы 4.

335. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 327-334, где капсидом AAV является AAV8.

336. Способ уменьшения, ингибирования или ослабления вредного иммунного ответа у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий доставку в кровоток или ткань, которая является мишенью иммунного ответа, указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества по существу полноразмерного или полноразмерного mAb, представляющего собой mAb к рецептору интерлейкина-6 (анти-IL6R), mAb к интерлейкину-6 (IL6), или его антигенсвязывающего фрагмента, экспрессируемого из трансгена и продуцируемого клетками мышц или печени человека.

337. Способ уменьшения, ингибирования или ослабления вредного иммунного ответа у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий:

введение в мышцу или печень указанного субъекта-человека терапевтически эффективного количества рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb, представляющее собой mAb к рецептору интерлейкина-6 (анти-IL6R), mAb к интерлейкину-6 (IL6), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках мышц или печени человека, так что образуется депо, которое высвобождает HuPTM-форму mAb или его антигенсвязывающего фрагмента.

338. Способ по п. 336 или 337, где анти-IL6R представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб, или анти-IL6 mAb представляет собой силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб.

339. Способ по любому из пп. 336-338, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, $F(ab')_2$ или scFv.

340. Способ по любому из пп. 336-339, где полноразмерное mAb или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 309, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 310 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 341 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 359 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 342; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 331 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 355 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 332; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 333 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 356 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 334; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 335 и необязательно полипептид

Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 357 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 336; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 337 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 358, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 338; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 339 и необязательно полипептид Fc-области IgG1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 283, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 340; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 341 и необязательно полипептид Fc-области с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 359, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 342.

341. Способ по п. 340, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 129, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 130, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 131, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 132, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 343, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 344, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 345, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 346, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 347, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 348, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 349, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 350, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 351, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 352, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 353, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 354, кодирующую легкую цепь.

342. Способ по любому из пп. 336-339, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или где полипептид Fc mAb гликозилирован или агликозилирован.

343. Способ по любому из пп. 336-342, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.

344. Способ по любому из пп. 336-343, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент гликозилирован, но не содержит обнаруживаемых NeuGc или α-Gal.

345. Способ по любому из пп. 336-344, где mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сульфатирование тирозина.

346. Способ по любому из пп. 336-345, где рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой AAV8 или AAV9.

347. Способ по любому из пп. 336-346, в котором продуцирование указанной HuPTM-формы указанного mAb или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдуцирования клеток печени или мышц человека в культуре с помощью указанного рекомбинантного вектора экспрессии нуклеотидов и экспрессии указанного mAb или антигенсвязывающего фрагмента.

Варианты осуществления композиции, содержащей AAV, кодирующий полноразмерные mAb

348. Композиция, содержащая вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), содержащая:

a. вирусный капсид AAV, который необязательно по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145), капсида AAVrh20, капсида AAVrh39 или капсида AAVcy5; и

b. искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, при этом кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb, функционально связанное с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетки человека;

c. при этом трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного mAb, которая управляет секрецией и посттрансляционной модификацией указанного mAb.

349. Композиция по п. 348, где указанное mAb содержит тяжелую цепь с полипептидом Fc-области и легкую цепь, имеющую любую из комбинаций последовательностей, указанных в параграфах 4, 13, 22, 31, 40, 49, 58, 67, 76, 85, 95, 107, 119, 131, 143, 155, 167, 179, 191, 203, 222, 231, 240, 249, 258, 270, 282, 294, 307 и 317.

350. Композиция по пп. 348-349, где указанное mAb представляет собой ланаделумаб полной длины.

351. Композиция по п. 350, где трансген содержит линкер Furin/T2A между нуклеотидными последовательностями, кодирующими тяжелую и легкую цепи указанного mAb.

352. Композиция по пп. 350-351, где регуляторная последовательность включает регуляторную последовательность из таблицы 1.

353. Композиция по п. 352, где регуляторная последовательность представляет собой промотор LMTP6, регуляторную последовательность ApoE.hAAT, промотор CAG, регуляторную последовательность CK8 или промотор TBG.

354. Композиция по пп. 350-353, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO 141, 286, 287 или 435-444.

355. Композиция по пп. 350-354, где вирусный капсид представляет собой вирусный капсид AAV8.

356. Фармацевтическая композиция для доставки ланаделумаба в кровоток для лечения наследственного ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, при этом указанная композиция содержит рекомбинантный AAV, содержащий трансген, кодирующий ланаделумаб, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках мышц и/или печени, при этом указанный рекомбинантный AAV вводят указанному субъекту-человеку в дозе, достаточной для того, чтобы вызвать экспрессию из трансгена и секрецию ланаделумаба в кровоток субъекта-человека с получением уровней ланаделумаба в плазме в диапазоне от по меньшей мере 5 мкг/мл до по меньшей мере 35 мкг/мл ланаделумаба у указанного субъекта.

357. Способ лечения наследственного ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий введение субъекту дозы композиции, содержащей рекомбинантный AAV, содержащий трансген, кодирующий ланаделумаб, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках мышц и/или печени в количестве, достаточном для экспрессии из трансгена и секреции ланаделумаба в кровоток субъекта-человека с получением уровней ланаделумаба в плазме в диапазоне от по меньшей мере 5 мкг/мл до по меньшей мере 35 мкг/мл ланаделумаба у указанного субъекта.

358. Способ или композиция по пп. 356 или 357, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 141, 286, 287 или 435-444.

359. Способ или композиция по пп. 356-358, где уровни ланаделумаба в плазме составляют от 20 мкг/мл до 35 мкг/мл.

360. Способ или композиция по пп. 356-359, где уровни ланаделумаба в плазме сохраняются в течение по меньшей мере трех месяцев.

361. Способ или композиция по пп. 356-360, где антитело ланаделумаб, секретируемое в плазму, демонстрирует более чем по меньшей мере 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% или 70% снижение активности pKal по данным измерения с помощью кинетического ферментативного функционального анализа.

362. Способ или композиция по п. 361, в котором активность антитела ланаделумаба измеряют через 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель или 12 недель после указанного введения.

363. Способ определения активности человеческого антитела против pKal в образце, при этом указанный способ включает:

a. инкубацию образца с активированным человеческим pKal;

b. затем инкубацию образца, инкубированного с активированным человеческим pKal, с синтетическим субстратом Pro-Phe-Arg-AMC;

c. показатель высвобождения AMC в течение трех часов по сравнению с контрольным образцом.

Дополнительные варианты осуществления

364. Фармацевтическая композиция для доставки антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в кровоток нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид AAV, который инфицирует клетки печени и/или мышц; и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанное с химерным промотором, который направляет экспрессию в клетках мышц и печени;

где указанный AAV-вектор составлен для внутримышечного введения.

365. Фармацевтическая композиция по п. 364, где химерный промотор представляет собой LMTP6 (SEQ ID NO: 320), LMTP13 (SEQ ID NO: 321), LMTP14 (SEQ ID NO: 322), LMTP15 (SEQ ID NO: 323), LMTP18 (SEQ ID NO: 324), LMTP19 (SEQ ID NO: 325) или LMTP20 (SEQ ID NO: 326).

366. Фармацевтическая композиция по п. 365, где химерный промотор представляет собой LMPT6 (SEQ ID NO: 320).

367. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 364-366, где вирусный капсид AAV по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145).

368. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 364-367, где антитело представляет собой севацизумаб, LKA-651, равулизумаб, адалимумаб, инфликсимаб, голимумаб, елезанумаб, NI-301, PRX-004, памревлумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб, сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, инебилизумаб, этролизумаб, ромосозумаб, ланаделумаб, бенрализумаб, реслизумаб, тралокинумаб, немолизумаб, омализумаб или тезепелумаб.

369. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 364-366, где трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 443.

4. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

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

Фиг. 2A-C. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к пептидам β-амилоида: Fab соланезумаба (**фиг. 2A**), GSK933776 (**фиг. 2B**) и леканемаб (**фиг. 2C**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области тяжелой цепи выделены серым цветом.

Фиг. 3. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к сортилину: AL-001 (**фиг. 3**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты

гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области тяжелой цепи выделены серым цветом.

Фиг. 4A-4C. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к тау: ABBV-8E12 (**фиг. 4A**), UCB-0107 (**фиг. 4B**) и NI-105 (**фиг. 4C**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области тяжелой цепи выделены серым цветом.

Фиг. 5. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к SEMA4D: VX15/2503 (**фиг. 5**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области выделены серым цветом.

Фиг. 6A-C. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к альфа-синуклеину: празинезумаб (**фиг. 6A**), NI-202 (**фиг. 6B**) и MEDI-1341 (**фиг. 6C**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 7A и B. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к супероксиддисмутазе 1 (SOD1): NI-205.10D12 (**фиг. 7A**); и NI-205.12G7 (**фиг. 7B**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области выделены серым цветом.

Фиг. 8A-C. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител к CGRPR: эптинезумаб (**фиг. 8A**), фреманезумаб (**фиг. 8B**) и галканезумаб (**фиг. 8C**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области выделены серым цветом.

Фиг. 9A-C. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител, направленных на биологические факторы: к VEGF, севацизумаб (**фиг. 9A**); к EpoR, LKA-651.NVS2 (**фиг. 9B**) и LKA-651.NVS3 (**фиг. 9C**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области выделены серым цветом.

Фиг. 10A-D. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител, направленных на биологические факторы: к ALK1, аскринвакумаб (**фиг. 10A**); к C5, тезидолумаб (**фиг. 10B**) и равулизумаб (**фиг. 10D**), и к эндоглину, каротуксимаб (**фиг. 10B**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области тяжелой цепи выделены серым цветом.

Фиг. 11. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области ANX-007, терапевтического антитела к CC1Q. Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 12A-C. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтического антитела, направленного к TNF-альфа: адалимумаб (**фиг. 12A**), инфликсимаб (**фиг. 12B**) и голимумаб (**фиг. 12C**). Сайты гликозилирования

выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирные области тяжелой цепи выделены серым цветом.

Фиг. 13. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области елезанумаба, терапевтического антитела к RGMa. Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в перечне условных обозначений. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 14А и В. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтического антитела к транстиретину (TTR): NI-301 (**фиг. 14А**) и PRX-004 (**фиг. 14В**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 15. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области памревлумаба, терапевтического антитела к CTGF. Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 16A-I. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области терапевтических антител, направленных на биологические факторы: к IL6R, сатрализумаб (**фиг. 16А**), сарилумаб (**фиг. 16В**), тоцилизумаб (**фиг. 16Н**); к IL6, силтуксимаб (**фиг. 16С**), клазакизумаб (**фиг. 16D**), сирукумаб (**фиг. 16Е**), олокизумаб (**фиг. 16F**), герилимзумаб (**фиг. 16G**) и к CD 19, инебилизумаб (**фиг. 16I**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив)

указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 17. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области этролизумаба, терапевтического антитела к ITGB7. Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 18. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области ромосозумаба, терапевтического антитела к склеростину. Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Глутамин сайты гликозилирования; сайты аспарагинального (N) гликозилирования, неконсенсусные сайты аспарагинального (N) гликозилирования; и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 19. Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для Fab-области ланаделумаба, терапевтического антитела к калликреину плазмы (pKal). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-О-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 20А и В. Выравнивание аминокислотных последовательностей Fab-фрагментов тяжелой (**фиг. 20А**) (остатки 1-220 SEQ ID NO: 1, остатки 1-223 SEQ ID NO: 3, остатки 1-237 SEQ ID NO: 5, остатки 1-220 SEQ ID NO: 7, остатки 1-223 SEQ ID NO: 9, остатки 1-232 SEQ ID NO: 11, остатки 1-228 SEQ ID NO: 13, остатки 1-224 SEQ ID NO: 15, остатки 1-232 SEQ ID NO: 17, остатки 1-230 SEQ ID NO: 19, остатки 1-234 SEQ ID NO: 21, остатки 1-231 SEQ ID NO: 23, остатки 1-219 SEQ ID NO: 25, остатки 1-227 SEQ ID NO: 27, остатки 1-224 SEQ ID NO: 29, остатки 1-230 SEQ ID NO: 31, остатки 1-225 SEQ ID NO: 33, остатки 1-235 SEQ ID NO: 35, остатки 1-223 SEQ ID NO: 37, остатки 1-224 SEQ ID NO: 39, остатки 1-226 SEQ ID NO : 41, остатки 1-229 SEQ ID NO: 43, остатки 1-229 SEQ ID NO: 45, остатки 1-228 SEQ ID NO: 47, остатки 1-237 SEQ ID NO: 49, остатки 1- 228 SEQ ID NO: 51, остатки 1-228 SEQ ID NO: 53, остатки 1-225

SE Q ID NO: 55, остатки 1-224 SEQ ID NO: 57, остатки 1-224 SEQ ID NO: 59, остатки 1-224 SEQ ID NO: 61, остатки 1-229 SEQ ID NO: 63, остатки 1-225 SEQ ID NO: 65, остатки 1-228 SEQ ID NO: 67, остатки 1-230 SEQ ID NO: 69, остатки 1-227 SEQ ID NO: 331, остатки 1-228 SEQ ID NO: 333, остатки 1-227 SEQ ID NO: 335, остатки 1-224 SEQ ID NO: 337, остатки 1-230 SEQ ID NO: 339, остатки 1-228 SEQ ID NO: 341, остатки 1-232 SEQ ID NO: 360, остатки 1-227 SEQ ID NO: 362, остатки 1-229 SEQ ID NO: 364, остатки 1-221 SEQ ID NO: 366, остатки 1-226 SEQ ID NO: 368, остатки 1-226 SEQ ID NO: 370, остатки 1-225 SEQ ID NO: 372 и остатки 1-227 SEQ ID NO: 374, соответственно, в порядке появления) и легкой (**фиг. 20B**) (SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 , 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373 и 375, соответственно, по порядку) цепи терапевтических антител, раскрытых в настоящем документе. Выделены положения, которые могут быть заменены для получения гипергликозилированных вариантов Fab-областей. Четыре замены (одна в тяжелой цепи и три в легкой цепи), которые должны привести к гипергликозилированию Fab-области клетками человека, указаны над положениями аминокислотных остатков. (Для конструирования mAb или антигенсвязывающих фрагментов, содержащих дополнительные сайты гликозилирования в Fab-домене, см., *например*, Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112 для описания производных антител, которые гипергликозилированы на Fab-домене полноразмерного антитела).

Фиг. 21. Множественное выравнивание последовательностей в программе Clustal последовательностей капсидов 1-9 AAV. Аминокислотные замены (показанные жирным шрифтом в нижних рядах) могут быть сделаны для капсидов AAV9 и AAV8 путем «рекрутинга» аминокислотных остатков из соответствующего положения других выровненных капсидов AAV. Последовательность, показанная серым цветом, представляет собой гипервариабельные области. Аминокислотным последовательностям капсидов AAV присвоены SEQ ID NO следующим образом: AAV1 представляет собой SEQ ID NO: 274; AAV2 представляет собой SEQ ID NO: 275; AAV3-3 представляет собой SEQ ID NO: 276; AAV4-4 представляет собой SEQ ID NO: 277; AAV5 представляет собой SEQ ID NO: 278; AAV6 представляет собой SEQ ID NO: 279; AAV7 представляет собой SEQ ID NO: 280; AAV8 представляет собой SEQ ID NO: 143; AAV9 представляет собой SEQ ID NO: 144; AAVrh10 представляет собой SEQ ID NO: 145; hu31 представляет собой SEQ ID NO: 281; и hu32 представляет собой SEQ ID NO: 282.

Фиг. 22. Гликаны, которые могут быть присоединены к областям HuGlyFab полноразмерных mAb или антигенсвязывающих доменов. (Адаптировано из Bondt et al., 2014, Mol & Cell Proteomics 13.1: 3029-3039).

Фиг. 23. Множественное выравнивание последовательностей в программе Clustal константных участков тяжелой цепи (CH2 и CH3) IgG1 (SEQ ID NO: 283), IgG2 (SEQ ID NO: 284) и IgG4 (SEQ ID NO: 285). Шарнирная область от остатка 219 до остатка 230 тяжелой цепи показана курсивом. Нумерация аминокислот представлена в формате EC.

Фиг. 24A-D. A. Схема, показывающая конфигурацию генома AAV8 и AAV9. Кассета экспрессии использует промотор CAG (SEQ ID NO: 411) для управления экспрессией человеческого антитела, которое связывается и ингибирует, например, калликреин плазмы (pKal) или TNFα. Мутантный лидер IL2 (mIL2, SEQ ID NO: 146) нацелен на тяжелую и легкую цепи для секреции, и последовательность фурин-F2A (SEQ ID NO: 231) управляет расщеплением полипротеина на компоненты тяжелой и легкой цепи. **B**. Трансфекция путем титрования, сравнивающая CAG.L01 (SEQ ID NO: 435; содержащая последовательность ланаделумаба L01 (SEQ ID NO: 141)) и CAG.L02 (SEQ ID NO: 437; содержащая последовательность ланаделумаба L02 (SEQ ID NO: 286)) провирусные плазмидные конструкции. Верхние панели демонстрируют экспрессию репортерного трансгена (eGFP) после трансфекции различных количеств плазмиды (4 мкг-нетрансфицированных). Нижняя левая панель отображает экспрессию ланаделумаба в клеточном лизате, а нижняя правая панель определяет экспрессию ланаделумаба в плазмиде, секретируемую в клеточный супернатант. **C.** Трансфекция путем титрования, сравнивающая конструкций провирусных плазмид CAG.L02 и CAG.L03. Панели отображают различную продолжительность воздействия (30 секунд или 60 секунд) экспрессированного ланаделумаба из конструкций CAG.L02 или CAG.L03, секретируемых в клеточном супернатанте. **D**. Трансфекция путем титрования, сравнивающая конструкции провирусной плазмиды Fab ланаделумаба. На фигуре показаны уровни Fab ланаделумаба после трансфекции различных количеств плазмиды. Конструкция L01 (CAG.L01: SEQ ID NO: 435) управляется промотором CB, тогда как L02 (CAG. L02: SEQ ID NO: 437) управляется промотором CAG (SEQ ID NO: 411).

Фиг. 25. Указанные векторы AAV9 и AAV8 (n = 5 на группу) вводили мышам NGS либо внутривенным (IV), либо внутримышечным (IM) путями. Внутривенное введение проводили в хвостовую вену, а внутримышечное введение было

двусторонним в икроножные мышцы. Мышей, получавших носитель, включали в качестве контролей. Через семь недель после введения мышей умерщвляли и уровни человеческих антител в сыворотке определяли с помощью ELISA.

Фиг. 26. Показано изменение во времени экспрессии антитела (уровни ланаделумаба в сыворотке) у мышей NGS после введения AAV9 (n = 5 на группу). Векторы AAV9 (2e11 gc) вводили IV (внутривенно) или IM (внутримышечно), и уровни антител в сыворотке определяли с помощью ELISA на 7-й день (D7), 21-й день (D21), 35-й день (D35) и 49-й день (D49).

На **фиг. 27** показана экспрессия моноклонального антитела ланаделумаба (Mabl) в мышечных клетках C2C12 при трансдукции клеток различными цис плазмидами, экспрессирующими ланаделумаб, под контролем различных регуляторных элементов: CAG (SEQ ID NO: 411), LMTP6 (SEQ ID NO: 320) и ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412). Для обнаружения белка антитела после трансдукции клетки обрабатывали FITC-конъюгированным анти-Fc (IgG) антителом. Показано, что окрашивание DAPI подтверждает слияние и жизнеспособность клеток при всех тестированных условиях.

Фиг. 28A и B. **A**. Уровни экспрессии в сыворотке (мкг/мл) ланаделумаба при внутривенной инъекции мышам C/57BL6 $2,5\times10^{12}$ гв/кг векторов AAV8, кодирующих ланаделумаб, регулируемые различными печеночно-специфическими, печеночно-тандемными и печеночно-мышечными регуляторными элементами (см. таблицу 1). Промоторы CAG (SEQ ID NO: 411) и TBG (SEQ ID NO: 423) использовали в качестве контролей. Показаны данные анализа крови через 1, 3, 5 и 7 недель после инъекции. LSPX1, печеночно-специфический промотор 1 (SEQ ID NO: 315); LSXP2, печеночно-специфический промотор 2 (SEQ ID NO: 316); LTP1, печеночно-специфический тандемный промотор 1 (SEQ ID NO: 317); LMTP6, тандемный промотор 6 с двойной специфичностью для печени и мышц (SEQ ID NO: 320). Уровни экспрессии белка определяли количественно с помощью ELISA на образцах сыворотки, взятых два раза в неделю. N = 5 мышей на вектор. Числа на оси x представляют недели после введения вектора. Данные представляют среднее значение + SEM. **8B**. Количественная оценка вирусных геномов в печени. Мышам C57B1/6 внутривенно вводили векторы AAV8, управляемые различными промоторами, специфичными для печени, в эквивалентных дозах ($2,5\times10^{12}$ гв/кг). N = 5 мышей на группу. ДНК вектора анализировали с помощью ddPCR в образцах печени мышей, собранных через 49 дней после введения вектора. Данные представляют среднее значение + SEM.

Фиг. 29A-F. Аминокислотная последовательность конструкции трансгена для области Fab терапевтического антитела, направленного на биологические факторы: анти-IL5, бенрализумаб (**A**); анти-IL5R, реслизумаб (**B**); анти-IL13, тралокинумаб (**C**); анти-IL31R, немолизумаб (**D**), анти-IgE, омализумаб (**E**) и анти-TSLP, тезепелумаб (**F**). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусные сайты гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-O-сульфатирования (курсив) указаны в обозначениях. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

Фиг. 30A и 30B. **A**. Способ введения и подбор дозы для крыс линии Вистар. Векторы AAV8, кодирующие векторизованный ланаделумаб, управляемый промоторами CAG, инъецировали внутримышечно в дозе 1×10^{13} гв/кг (масса тела) или внутривенно при 1×10^{13} гв/кг и 1×10^{14} гв/кг крысам SD. Экспрессию белка количественно оценивали с помощью ELISA на сыворотке, собираемой каждые три-семь дней. N=3 крысы на вектор. Данные представляют среднее значение + SEM. * обозначает p <0,05, ** обозначает p <0,01 с t-критерием Уэлча. **B**. Векторы AAV8, кодирующие векторизованный ланаделумаб, управляемый промоторами CAG (SEQ ID NO: 411) или ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412), вводили внутривенно в дозе 5×10^{13} гв/кг крысам Wistar и SD. Экспрессию белка количественно оценивали с помощью ELISA на сыворотке, собираемой один раз в неделю. N=3 крысы на вектор. Данные представляют среднее значение + SEM. P-значение: *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$. Концентрации антител в сыворотке (средние и SEM) у животных каждой группы в каждый момент времени представлены в таблице.

Фиг. 31A-31D. A. Концентрация антитела против калликреина (pKal) (ланаделумаб) в сыворотке после доставки AAV8. Животные получали двусторонние инъекции в мышцу GA в дозе 5×10^{10} гв/кг. Сыворотку собирали раз в две недели и концентрацию векторизованных антител количественно определяли с помощью ELISA. **B**. Количественная оценка векторного генома на соответствующих тканях с помощью цифровой капельной ПЦР (ddPCR). **C**. Сравнение экспрессии векторных генов из печени. Данные представляют относительную кратность экспрессии генов, количественно определенную методом ΔΔCT. **D**. Сравнение AAV-опосредованной экспрессии трансгена из тканей с помощью цифровой капельной ПЦР (ddPCR). Копии мРНК антитела против pKal нормализовали к копиям мРНК *GAPDH* по тканям. Данные представлены как среднее значение ± SEM (стандартная ошибка среднего).

Статистическую значимость определяли с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим ретроспективным анализом с HSD-критерием Тьюки. * P <0,05, ** P <0,01.

Фиг. 32: Концентрации антител в сыворотке мышей дикого типа, обработанных AAV8. Векторы ланаделумаба, полученные с использованием систем продуцирования BV/Sf9, отличных от системы HEK. Мышам C57BL/6 внутривенно вводили векторы в дозе $2,5\times10^{12}$ гв/кг.

Фиг. 33A-33F. A и **B** показывают кривую титрования pKal и отношения сигнал/шум для указанных концентраций pKal. **C**. Две концентрации pKal (6,25 нМ и 12,5 нМ) использовали для измерения диапазона супрессии ланаделумаба (по сравнению с неспецифическим контрольным антителом IgG человека) в ответе на дозу антитела. Мышам C57BL/6 (n=5) внутривенно вводили 5×10^{10} геномов вектора (гв) ($2,5\times10^{12}$ гв/кг) ApoE.hAAT.L02.AAV8 на мышь. Показаны скомпилированные активности ферментов и процентные снижения активности pKal для обеих групп мышей **D** и **E**. Наклоны кривых прогрессивной активности ферментов и стандарт AMC использовали для расчета удельной ферментативной активности pKal, при этом на 49 день была зарегистрирована значительно меньшая активность по сравнению с днем -7. **F**. Процент снижения ферментативной активности рассчитывали делением активности на 49 день на активность на день -7. Векторизованный IgG, содержащий анти-pKal антитело, значительно снижал активность pKal. Все результаты представляют собой компиляцию из 2-5 мышей на группу. Для определения значимости различий использовали t-критерии Стьюдента (парные, двусторонние), где * p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001.

Фиг. 34A-34L. Количественная оценка объема лап мышей и опуханий лап у мышей с отеком лапы, вызванным каррагинаном, получавших тестируемые препараты. Гистограммы показывают объемы лап (**A, C, E, G, I** и **K**), измеренные через 2 (**A**), 4 (**C**), 6 (**E**), 8 (**G**), 24 (**I**) и 48 (**K**) часов после инъекции каррагинана у мышей C57BL/6. Различие в опухании лап (**B, D, F, H, J** и **L**) оценивали путем вычисления различия в объемах лап, измеренных в каждый момент времени и исходном состоянии. N = 10 мышей на группу. Анализ данных проводился с помощью одностороннего ANOYA с апостериорным критерием множественных сравнений Даннета. Данные представляют среднее значение + среднеквадратичное отклонение. Значения P: *, p <0,05; **, p <0,01; ***, p <0,001; ****, p <0,0001.

Фиг. 35A и 35B: Изменение во времени объемов мышиных лап, измеренных у мышей с каррагенан-индуцированным отеком лап, получавших тестируемые препараты. Объемы лап мышей измеряли до (исходный уровень) и в различные моменты времени после инъекции 0,7% (**A**) или 1% (**B**) каррагинана. N = 10 мышей на группу. Данные представляют среднее значение ± стандартная ошибка среднего.

Фиг. 36A и 36B: Характеристика векторной экспрессии IgG и Fab адалимумаба цис-плазмиды. (**A**) Вестерн-блоттинг, показывающий экспрессию IgG и Fab адалимумаба, полученных из клеточного супернатанта клеток 293T, трансфицированных соответствующими цис-плазмидами. (**B**) ELISA связывания человеческого TNFα, полученного из клеток, трансфицированных цис-плазмидой pAAV.CAG.Lanadelumab.IgG, использовали в качестве контроля неспецифического антитела (mAb). Данные представлены как среднее ± SEM.

Фиг. 37A-37C. Характеристика экспрессии и активности IgG адалимумаба, экспрессируемого AAV8. (A) Количественная оценка адалимумаба, экспрессируемого AAV8 при множественности заражения (MOI) после трансдукции клеток 293T.AAVR. (**B**) Вестерн-блоттинг, показывающий экспрессию компонентов тяжелой и легкой цепи IgG адалимумаба при двух разных MOI. (**C**) ELISA связывания человеческого TNFα IgG адалимумаба, полученного из супернатанта клеточной культуры. Данные представлены как среднее ± SEM.

Фиг. 38. Сравнение самокомплементарных цис-плазмид AAV, кодирующих векторный Fab адалимумаба. Отрицательный контроль включает клеточный супернатант от нетрансфицированных клеток. Данные представлены как среднее ± SEM.

Фиг. 39. Связывание TNFα у разных модельных видов (мыши, крысы и человека) векторными IgG и Fab адалимумаба. Отрицательный контроль включал супернатант, полученный из нетрансфицированных клеток. Векторный ланаделумаб (pAAV.CAG.lanadelumab.IgG) функционировал в качестве контроля неспецифического антитела. Данные представлены как среднее ± SEM.

5. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Композиции и способы описаны для доставки полностью человеческого посттрансляционно модифицированного (HuPTM) терапевтического моноклонального антитела (mAb) или HuPTM антигенсвязывающего фрагмента терапевтического mAb (например, полностью гликозилированного организмом человека Fab (HuGlyFab) терапевтического mAb) пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано

заболевание или состояние, для которого показано лечение терапевтическим mAb. Доставка может быть успешно осуществлена посредством генной терапии - *например*, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей терапевтическое mAb или его антигенсвязывающий фрагмент (или гипергликозилированное производное того и другого) пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано состояние, для которого показано лечение терапевтическим mAb - для создания постоянного депо в ткани или органе пациента, которое непрерывно доставляет HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического mAb, *например*, гликозилированный организмом человека трансгенный продукт, в ткань-мишень, где mAb или антигенсвязывающий фрагмент оказывает терапевтическое действие.

HuPTM mAb или HuPTM антигенсвязывающий фрагмент, кодируемый трансгеном, может включать, но без ограничения, полноразмерное терапевтическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с:

• Мишенями нервной системы, включая пептиды бета-амилоида (Aβ или Abeta), сортилин, тау-белок, SEMA4D, альфа-синуклеин и рецептор CGRP,

• Глазные мишени, включая VEGF, EpoR, ALK1, эндоглин, компонент 5 комплемента и компонент 1Q комплемента,

• Молекула-А отталкивающего направляющего сигнала,

• Транстиретин

• Фактор роста соединительной ткани

• Мишени оптического нейромиелита (NMO)/неинфекционного увеита и мишени иммунного ответа, включая рецептор интерлейкина 6, интерлейкин 6 и CD19

• Интегрин бета 7,

• Склеростин

• TNF-альфа и

• Белки-мишени плазмы, такие как белки комплемента человека, включая калликреин плазмы,

• Мишени аутоиммунных, респираторных и аллергических заболеваний, такие как интерлейкин и рецепторы интерлейкина, включая IL5, IL5R, IL13 и IL31RA, иммуноглобулин Е, и стромальный лимфопоэтин тимуса,

или такие mAb или антигенсвязывающие фрагменты, сконструированные таким образом, что содержат дополнительные сайты гликозилирования в Fab-домене (*например*, см. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью

включена в настоящий документ посредством ссылки для описания производных антитела, которые гипергликозилированы в Fab-домене полноразмерного антитела). Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей антигенсвязывающих фрагментов указанных выше антител представлены в таблице 5, и нуклеотидные последовательности, включая кодон-оптимизированные варианты, кодирующие тяжелую и легкую цепи этих антигенсвязывающих фрагментов, представлены в таблице 6.

Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, включает нереплицирующиеся векторы на основе рекомбинантного аденоассоциированного вируса («rAAV»). Рекомбинантные аденоассоциированные вирусы (rAAV) являются особенно привлекательными векторами по ряду причин - они могут трансдуцировать нереплицирующиеся клетки и, следовательно, могут быть использованы для доставки трансгена в ткани, где деление клеток происходит на низких уровнях, например в ЦНС; они могут быть модифицированы для преимущественного нацеливания на конкретный выбранный орган; и существуют сотни капсидных серотипов на выбор, чтобы получить желаемую тканевую специфичность и/или избежать нейтрализации уже существующими антителами пациента к некоторым AAV. Такие rAAV включают, но без ограничения, векторы на основе AAV, содержащие капсидные компоненты из одного или более из AAV1, AAV2, AAV2.m78, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAVrh10 или AAVrh20. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, обеспеченные в настоящем документе, содержат капсиды из одного или более серотипов AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAVrh10 или AAVrh20.

Однако могут быть использованы другие вирусные векторы, включая, но без ограничения, лентивирусные векторы; вирусные векторы осповакцины или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК». Экспрессия трансгена может контролироваться конститутивными или тканеспецифическими элементами контроля экспрессии.

Конструкции генной терапии сконструированы таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны экспрессироваться примерно в равных количествах, другими словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются при соотношении приблизительно 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и

легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, таким образом, что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелых и легких цепей. В некоторых вариантах осуществления кодирующие последовательности кодируют Fab или $F(ab')_2$ или scFv.

В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты (например, полинуклеотиды) и последовательности нуклеиновых кислот, раскрытые в настоящем документе, могут быть кодон-оптимизированными, например, с помощью любого способа оптимизации кодонов, известного специалисту в данной области (см., например, обзор Quax et al., 2015, Mol Cell 59: 149-161), а также могут быть оптимизированы для уменьшения димеров CpG. Нуклеотидные последовательности вариабельных доменов тяжелых и легких цепей терапевтических антител, которые могут быть кодон-оптимизированными, раскрыты в таблице 6. Каждая тяжелая и легкая цепь требует лидера для обеспечения надлежащего посттрансляционного процессинга и секреции (если не экспрессированы как scFv, в котором только N-концевая цепи требует лидерной последовательности). В настоящем документе раскрыты применимые лидерные последовательности для экспрессии тяжелых и легких цепей терапевтических антител в клетках человека. Иллюстративная конструкция рекомбинантной экспрессии показана на фиг. 1 и на фиг. 24A.

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

Фармацевтические композиции, подходящие для введения субъектам-людям, содержат суспензию рекомбинантного вектора в буфере для составления, содержащем физиологически совместимый водный буфер, поверхностно-активное вещество и

необязательные вспомогательные вещества. Такой буфер для составления может содержать один или несколько из полисахарида, поверхностно-активного вещества, полимера или масла.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения полноразмерное HuPTM mAb или HuPTM Fab или другой его антигенсвязывающий фрагмент можно продуцировать в линиях клеток человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК, и гликопротеин может быть введен пациентам. Линии клеток человека, которые могут быть использованы для такой продукции рекомбинантных гликопротеинов, включают, но без ограничения, клетки эмбриональной почки человека 293 (HEK293), фибросаркомы HT-1080, HKB-11, CAP, HuH-7 и клеточные линии сетчатки, PER.C6 или RPE (*например*, см. публикацию Dumont et al., 2015, Crit. Rev. Biotechnol. 36(6):1110-1122, которая полностью включена посредством ссылки для обзора линий клеток человека, которые могут быть использованы для рекомбинантной продукции HuPTM mAb, HuPTM Fab или HuPTM scFv, *например*, HuPTM Fab гликопротеина). Чтобы обеспечить полное гликозилирование, особенно сиалилирование, и сульфатирование тирозина, используемая для продукции клеточная линия может быть усилена путем конструирования клеток-хозяев для коэкспрессии α-2,6-сиалилтрансферазы (или α-2,3- и α-2,6-сиалилтрансфераз) и/или ферментами TPST-1 и TPST-2, ответственными за тирозин-О-сульфатирование в клетках человека.

Необязательно, чтобы каждая молекула, полученная в результате генной или белковой терапии, была полностью гликозилированной и сульфатированной. Скорее, популяция произведенных гликопротеинов должна иметь достаточное гликозилирование (включая 2,6-сиалилирование) и сульфатирование для демонстрации эффективности. Целью генной терапии в соответствии с изобретением является замедление или остановка прогрессирования заболевания.

Комбинированные терапии, включающие доставку полноразмерного HuPTM mAb или HuPTM Fab, или его антигенсвязывающего фрагмента пациенту, сопровождаемую применением других доступных способов лечения, охватываются способами по настоящему изобретению. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Такие дополнительные способы лечения могут включать, но без ограничения, совместную терапию с терапевтическим mAb.

Также, обеспечены способы изготовления вирусных векторов, в частности, вирусных векторов на основе AAV. В конкретных вариантах осуществления

обеспечены способы получения рекомбинантных AAV, включающие культивирование клетки-хозяина, содержащей искусственный геном, содержащий цис-экспрессионную кассету, фланкированную ITR AAV, при этом цис-экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий терапевтическое антитело, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые будут контролировать экспрессию трансгена в клетках человека; транс-экспрессионную кассету, в которой отсутствуют ITR AAY, при этом транс-экспрессионная кассета кодирует белок rep и капсидный белок AAV, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией белков rep и капсида AAV в клетке-хозяине в культуре и поставляют белки rep и cap in trans; достаточные хелперные функции аденовируса для репликации и упаковки искусственного генома капсидными белками AAV; и выделение рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственный геном, из клеточной культуры.

5.1 КОНСТРУКЦИИ

В настоящем документе обеспечены вирусные векторы или другие экспрессирующие ДНК конструкции, кодирующие HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, в частности, HuGlyFab или гипергликозилированное производное антигенсвязывающего фрагмента HuPTM mAb. Вирусные векторы и другие экспрессирующие ДНК конструкции, обеспеченные в настоящем документе, включают любой подходящий способ доставки трансгена в клетку-мишень. Средства доставки трансгена включают вирусные векторы, липосомы, другие липидсодержащие комплексы, другие макромолекулярные комплексы, синтетическую модифицированную мРНК, немодифицированную мРНК, небольшие молекулы, небиологически активные молекулы (*например*, частицы золота), полимеризованные молекулы (*например*, дендримеры), голую ДНК, плазмиды, фаги, транспозоны, космиды или эписомы. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой таргетный вектор, *например*, вектор, нацеленный на пигментные эпителиальные клетки сетчатки, клетки ЦНС, мышечные клетки или клетки печени.

В некоторых аспектах раскрытие обеспечивает нуклеиновую кислоту для применения, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует HuPTM mAb или HuGlyFab или другой его антигенсвязывающий фрагмент, в качестве трансгена, описанного в настоящем документе, функционально связанного с промотором, выбранным для экспрессии в ткани, нацеленной на экспрессию трансгена, например, но без ограничения, промотор CB7/CAG (SEQ ID NO:

411, фиг. 24A), и связанные расположенные апстрим регуляторные последовательности (см. фиг. 1), промотор цитомегаловируса (CMV), промотор вируса саркомы Рауса (RSV), промотор GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок), промотор MBP (основной миелиновый белок), промотор MMT, промотор EF-1 альфа (SEQ ID NO: 415), mU1a (SEQ ID NO: 414), промотор UB6, промотор бета-актина курицы (CBA), промотор RPE65 и промотор опсина, специфические для печени промоторы, такие как промотор TBG (связывающий тироксин глобулин) (SEQ ID NO: 423), промотор APOA2, промотор SERPINA1 (hAAT), промотор ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412) или mIR122, или мышечно-специфические промоторы, такие как промотор десмина человека, промотор CK8 (SEQ ID NO: 413) или промотор Pitx3, индуцируемые промоторы, такие как индуцируемый гипоксией промотор или, индуцируемый рапамицином промотор.

В некоторых аспектах в настоящем документе экспрессия трансгена контролируется сконструированными регуляторными элементами нуклеиновых кислот, которые имеют более одного регуляторного элемента (промотор или энхансер), включая регуляторные элементы, которые расположены тандемно (две или три копии), которые способствуют печеночно-специфической экспрессии, или печеночно-специфической экспрессии и мышечно-специфической экспрессии, или печеночно-специфической экспрессии и костно-специфической экспрессии. Эти регуляторные элементы включают для печеночно-специфической экспрессии LSPX1 (SEQ ID NO: 315), LSPX2 (SEQ ID NO: 316), LTP1 (SEQ ID NO: 317), LTP2 (SEQ ID NO: 318) или LTP3 (SEQ ID NO: 319), экспрессии в печени и мышцах LMTP6 (SEQ ID NO: 320), LMTP13 (SEQ ID NO: 321), LMTP14 (SEQ ID NO: 322), LMTP15 (SEQ ID NO: 323), LMTP18 (SEQ ID NO: 324), LMTP19 (SEQ ID NO: 325) или LMTP20 (SEQ ID NO: 326), или экспрессии в печени и костной ткани LBTP1 (SEQ ID NO: 327) или LBTP2 (SEQ ID NO: 328), последовательности которых представлены в таблице 1.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе обеспечены рекомбинантные векторы, которые содержат одну или несколько нуклеиновых кислот (*например*, полинуклеотиды). Нуклеиновые кислоты могут содержать ДНК, РНК или комбинацию ДНК и РНК. В некоторых вариантах осуществления ДНК содержит одну или несколько последовательностей, выбранных из группы, состоящей из последовательностей промотора, последовательностей интересующего гена (трансгена, *например*, нуклеотидных последовательностей, кодирующих тяжелые и легкие цепи HuPTM mAb или HuGlyFab, или другой антигенсвязывающий фрагмент),

нетранслируемых областей и терминирующих последовательностей. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат промотор, функционально связанный с представляющим интерес геном.

В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты (*например*, полинуклеотиды) и последовательности нуклеиновых кислот, раскрытые в настоящем документе, могут быть кодон-оптимизированы, например, с помощью любого способа оптимизации кодонов, известного специалисту в данной области (*см.*, *например*, обзор Quax et al., 2015, Mol Cell 59:149-161). Нуклеотидные последовательности для экспрессии в клетках человека представлены в настоящем документе для тяжелой и легкой цепей HuGlyFab в таблице 6.

В конкретном варианте осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) один или более контрольных элементов, b) интрон β-актина курицы, и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи mAb или Fab, разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/(F/T)2A (SEQ ID NO: 231 или 429), обеспечивая экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция показана на фиг. 1.

[0073] В конкретном варианте осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) один или более контрольных элементов, b) интрон β-актина курицы и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие полноразмерное антитело, содержащее последовательности тяжелых и легких цепей, с использованием последовательностей, которые кодируют Fab-фрагмент тяжелой цепи, включая последовательность шарнирной области, плюс полипептид Fc-области тяжелой цепи для соответствующего изотипа и легкой цепи, при этом нуклеотидные последовательности тяжелой и легкой цепей разделены саморасщепляющимся линкером фурин (F)/(F/T)2A (SEQ ID NO: 231 или 429), обеспечивающие экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепи. Иллюстративная конструкция показана на фиг. 24A.

5.1.1 Векторы мРНК

В некоторых вариантах осуществления, в качестве альтернативы ДНК-векторам, векторы, представленные в настоящем документе, представляют собой

модифицированную мРНК, кодирующую представляющий интерес ген (*например*, трансген, например, HuPTM mAb или HuGlyFab, или другой его антигенсвязывающий фрагмент). Синтез модифицированной и немодифицированной мРНК для доставки трансгена к клеткам пигментного эпителия сетчатки описан, например, в публикации Hansson et al., J. Biol. Chem., 2015, 290(9):5661-5672, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе обеспечена модифицированная мРНК, кодирующая HuPTM mAb, HuPTM Fab или HuPTM scFv.

5.1.2 Вирусные векторы

Вирусные векторы включают векторы на основе аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV, *например*, AAV8, AAV9, AAVrh10, AAV2.7m8), лентивируса, хелпер-зависимого аденовируса, вируса простого герпеса, поксвируса, гемагглютинирующего вируса Японии (HVJ), альфа-вируса, вируса коровьей оспы и ретровируса. Ретровирусные векторы включают векторы на основе вируса лейкоза мыши (MLV) и вируса иммунодефицита человека (HlV). Альфа-вирусные векторы включают вирус леса Семлики (SFV) и вирус Синдбис (SIN). В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой рекомбинантные вирусные векторы. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, изменены таким образом, что они характеризуются дефицитом по репликации у людей. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы представляют собой гибридные векторы, *например*, AAV-вектор, помещенный в «нежизнеспособный» аденовирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе обеспечены вирусные векторы, содержащие вирусный капсид из первого вируса и белки вирусной оболочки из второго вируса. В конкретных вариантах осуществления второй вирус представляет собой вирус везикулярного стоматита (VSV). В более конкретных вариантах осуществления белок оболочки представляет собой белок VSV-G.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой вирусные векторы на основе ВИЧ. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе ВИЧ, обеспеченные в настоящем документе, содержат по меньшей мере два полинуклеотида, при этом гены gag и pol получены из генома ВИЧ, а ген env - из другого вируса.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой вирусные векторы на основе вируса простого герпеса. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе вируса простого герпеса, обеспеченные в настоящем документе, модифицированы таким образом, что они не содержат один или более немедленных ранних генов (IE), что делает их нецитотоксичными.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой вирусные векторы на основе MLV. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе MLV, обеспеченные в настоящем документе, содержат до 8 т.п.н. гетерологичной ДНК вместо вирусных генов.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой вирусные векторы на основе лентивирусов. В некоторых вариантах осуществления лентивирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, получены из человеческих лентивирусов. В некоторых вариантах осуществления лентивирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, получены из, отличных от человеческих лентивирусов. В некоторых вариантах осуществления лентивирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, упакованы в лентивирусный капсид. В некоторых вариантах осуществления лентивирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат один или несколько из следующих элементов: длинные концевые повторы, сайт связывания праймера, полипуриновый тракт, сайты att и сайт инкапсидирования.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой вирусные векторы на основе альфа-вирусов. В некоторых вариантах осуществления альфа-вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой дефектные по репликации рекомбинантные альфа-вирусы. В некоторых вариантах осуществления репликоны альфа-вируса в обеспеченных в настоящем документе альфа-вирусных векторах, нацелены на конкретные типы клеток путем экспонирования функционального гетерологичного лиганда на поверхности их вириона.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой вирусные векторы на основе AAV. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, обеспеченные в настоящем документе, не кодируют ген rep AAV (необходимый для репликации) и/или

ген cap AAV (необходимый для синтеза капсидных белков) (белки rep и cap могут быть предосталены упаковывающими клетками *in trans*). Идентифицировано множество серотипов AAV. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты одного или более серотипов AAV. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, обеспеченные в настоящем документе, содержат капсидные компоненты из одного или более из AAV1 (SEQ ID NO: 274), AAV2 (SEQ ID NO: 275), AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142), AAV3 (SEQ ID NO: 276), AAV4 (SEQ ID NO: 277), AAV5, AAV6 (SEQ ID NO: 279), AAV7 (SEQ ID NO: 280), AAV8 (SEQ ID NO: 143), AAV9 (SEQ ID NO: 144), AAV10, AAV11 или AAVrh10 (SEQ ID NO: 145). В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты из одного или более серотипов AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 или AAVrh10. Обеспечены вирусные векторы, в которых капсидный белок представляет собой вариант капсидного белка AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 144) или капсидного белка AAVrh10 (SEQ ID NO: 145), и например, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,9% идентичен аминокислотной последовательности капсидного белка AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсидного белка AAV9 (SEQ ID NO: 144) или капсидного белка AAVrh10 (SEQ ID NO: 145), сохраняя при этом биологическую функцию нативного капсида. В некоторых вариантах осуществления кодированный капсид AAV характеризуется последовательность SEQ ID NO: 143, 144 или 145 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами и сохранением биологической функцию капсида AAV8, AAV9 или AAVrh10. На фиг. 21 представлено сравнительное выравнивание аминокислотных последовательностей капсидных белков различных серотипов AAV с потенциальными аминокислотами, которые могут быть заменены в определенных положениях в выровненных последовательностях, на основе сравнения в строке, помеченной как SUBS. Соответственно, в конкретных вариантах осуществления AAV-вектор содержит вариант капсида AAV8, AAV9 или AAVrh10, который содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотных замен, которые не присутствуют в этом положении в нативной капсидной последовательности AAV, как указано в строке SUBS фиг. 21. Аминокислотная последовательность для капсидов AAV8, AAV9 и AAVrh10 представлена на фиг. 21.

В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV содержат компоненты из одного или более серотипов AAV. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, обеспеченные в настоящем документе, содержат капсидные компоненты одного или нескольких из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV 12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAV.rh8, AAV.rh10, AAVrh20, AAV.rh39, AAV.Rh74, AAV.RHM4-1, AAV.hu37, AAV.Anc80, AAV.Anc80L65, AAV.7m8, AAVPHP.B, AAV.PHP.eB, AAV2.5, AAV2tYF, AAV3B, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13, AAV.HSC14, AAV.HSC15 или AAV.HSC16, или другие частицы rAAV, или комбинации двух или более из них. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты одного или нескольких из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV 12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV 16, AAV.rh8, AAV.rh10, AAV.rh20, AAV.rh39, AAV.Rh74, AAV.RHM4-1, AAV.hu37, AAV.Anc80, AAV.Anc80L65, AAV.7m8, AAV.PHP.B, AAV.PHP.eB, AAV2.5, AAV2tYF, AAV3B, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13, AAV.HSC14, AAV.HSC15 или AAV.HSC16, или другие частицы rAAV, или комбинации двух или более их серотипов. В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат капсидный белок, который по меньшей мере на 80% или более идентичный, например, на 85%, 85%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% и т.д., т.е. до 100% идентичен, например, последовательности VP1, VP2 и/или VP3 серотипа капсида AAV, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAV.rh8, AAV.rh10, AAV.rh20, AAV.rh39, AAV.Rh74, AAV.RHM4-1, AAV.hu37, AAV.Anc80, rAAV.Anc80L65, AAV.7m8, AAV.PHP.B, AAV.PHP.eB, AAV2.5, AAV2tYF, AAV3B, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13, AAV.HSC14, AAV.HSC15 или AAV.HSC16, или его производное, модификацию или псевдотип.

В конкретных вариантах осуществления рекомбинантный AAV, который используется в композициях и способах, описанных в настоящем документе,

представляет собой Anc80 или Anc80L65 (см., например, публикацию Zinn et al., 2015, Cell Rep. 12(6): 1056-1068, которая полностью включена посредством ссылки). В конкретных вариантах осуществления рекомбинантный AAV, который используется в композициях и способах, описанных в настоящем документе, представляет собой AAV.7m8 (включая его варианты) (см., например, патенты США 9193956; 9458517; 9587282; 2016/0376323 и публикацию WO 2018/075798, каждый из который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). В конкретных вариантах осуществления AAV, который используется в композициях и способах, описанных в настоящем документе, представляет собой любой AAV, раскрытый в патенте США 9585971, такой как AAV-PHP.B. В конкретных вариантах осуществления AAV, который используется в композициях и способах, описанных в настоящем документе, представляет собой вектор AAV2/Rec2 или AAV2/Rec3, который содержит гибридные последовательности капсида, полученные из AAV8 и серотипов cy5, rh20 или rh39 (см., например, публикацию Issa et al., 2013, PLoS One 8(4): e60361, которая включена в настоящий документе посредством ссылки для этих векторов). В конкретных вариантах осуществления AAV, который используется в композициях и способах, описанных в настоящем документе, представляет собой AAV, раскрытый в любом из следующих документов, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки: US 7282199; US 7906111; US 8524446; US 8999678; US 8628966; US 8927514; US 8734809; US 9284357; US 9409953; US 9169299; US 9193956; US 9458517; US 9587282; US 2015/0374803; US 2015/0126588; US 2017/0067908; US 2013/0224836; US 2016/0215024; US 2017/0051257; PCT/US2015/034799; и PCT/EP2015/053335. В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат белок капсида, который по меньшей мере на 80% или более идентичен, например, 85%, 85%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% и т.д., т.е. до 100% идентичен последовательности VP1, VP2 и/или VP3 капсида AAV, раскрытого в любом из следующих патентов и патентных заявок, каждые из которых полностью включены в настоящий документ посредством ссылки: патенты США №№ 7282199; 7906111; 8524446; 8999678; 8628966; 8927514; 8734809; US 9284357; 9409953; 9169299; 9193956; 9458517; и 9587282; публикации патентных заявок США № 2015/0374803; 2015/0126588; 2017/0067908; 2013/0224836; 2016/0215024; 2017/0051257; и международные патентные заявки №№ PCT/US2015/034799; PCT/EP2015/053335.

В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат любой капсид AAV, раскрытый в патенте США № 9840719 и WO 2015/013313, такой как AAV.Rh74 и

RHM4-1, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат любой капсид AAV, раскрытый в WO 2014/172669, такой как AAV rh.74, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат капсид AAV2/5, как описано в публикации Georgiadis et al., 2016, Gene Therapy 23: 857-862 и публикации Georgiadis et al., 2018, Gene Therapy 25: 450, каждая из которых полностью включена посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат любой капсид AAV, раскрытый в заявке WO 2017/070491, такой как AAV2tYF, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат капсиды AAVLK03 или AAV3B, как описано в публикации Puzzo et al., 2017, Sci. Transl. Med. 29(9): 418, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат любой капсид AAV, раскрытый в патентах США 8628966; 8927514; 9923120 и публикации WO 2016/049230, такой как HSC1, HSC2, HSC3, HSC4, HSC5, HSC6, HSC7, HSC8, HSC9, HSC10, HSC11, HSC12, HSC13, HSC14, HSC15 или HSC16, каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат белок капсида, раскрытый в публикации международной заявки WO 2003/052051 (см., например, SEQ ID NO: 2 из публикации '051), WO 2005/033321 (см., например, SEQ ID NO: 123 и 88 из публикации '321), WO 03/042397 (см., например, SEQ ID NO: 2, 81, 85 и 97 из публикации '397), WO 2006/068888 (см., например, SEQ ID NO: 1 и 3-6 из публикации '888), WO 2006/110689 (см., например, SEQ ID NO: 5-38 из публикации '689), WO2009/104964 (см., например, SEQ ID NO: 1-5, 7, 9, 20, 22, 24 и 31 из публикации '964), WO 2010/127097 (см., например, SEQ ID NO: 5-38 из публикации ‘097) и WO 2015/191508 (см., например, SEQ ID NO: 80-294 из публикации '508) и публикация заявки США № 20150023924 (см., например, SEQ ID NO: 1, 5-10 из публикации '924), содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы rAAV содержат белок капсида, который по меньшей мере на 80% или более идентичен, например, 85%, 85%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% и т.д., т.е. до 100% идентичен последовательности VP1, VP2 и/или VP3 капсида AAV, раскрытого в публикации международной заявки № WO 2003/052051 (см., например, SEQ ID NO: 2 из публикации ‘051), WO 2005/033321 (см., например, SEQ ID NO: 123 и

88 из публикации '321), WO 03/042397 (см., например, SEQ ID NO: 2, 81, 85 и 97 из публикации '397), WO 2006/068888 (см., например, SEQ ID NO: 1 и 3-6 публикации '888), WO 2006/110689 (см., например, SEQ ID NO: 5-38 из публикации '689), W02009/104964 (см., например, SEQ ID NO: 1-5, 7, 9, 20, 22, 24 и 31 из публикации 964), WO 2010/127097 (см., например, SEQ ID NO: 5-38 из публикации ‘097) и WO 2015/191508 (см., например, SEQ ID NO: 80-294 из публикации '508) и публикации заявки США 20150023924 (см., например, SEQ ID NO: 1, 5-10 из публикации '924).

В дополнительных вариантах осуществления частицы rAAV содержат псевдотипированный капсид AAV. В некоторых вариантах осуществления псевдотипированные капсиды AAV представляют собой псевдотипированные капсиды AAV rAAV2/8 или rAAV2/9. Способы получения и использования псевдотипированных частиц rAAV известны в данной области (см., например, Duan et al., J. Virol., 75:7662-7671 (2001); Halbert et al., J. Virol., 74:1524-1532 (2000); Zolotukhin et al., Methods 28: 158-167 (2002); и Auricchio et al., Hum. Molec. Genet. 10:3075-3081, (2001).

В некоторых способах, описанных в настоящем документе, используют вирусные векторы на основе AAV8, AAV9 и AAVrh10. Нуклеотидные последовательности вирусных векторов на основе AAV и способы получения рекомбинантных AAV и капсидов AAV описаны, например, в патенте США 7282199 B2, патенте США 7790449 B2, патенте США 8318480 B2, патенте США 8962332 B2 и международной заявке на патент PCT/EP2014/076466, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. В одном аспекте в настоящем документе обеспечены вирусные векторы на основе AAV (*например*, AAV8, AAV9 или AAVrh10), кодирующие трансген (*например*, HuPTM Fab). Аминокислотные последовательности капсидов AAV, включая AAV8, AAV9 и AAVrh10, представлены на фигуре 21.

В некоторых вариантах осуществления может быть использован одноцепочечный AAV (ssAAV), как указано выше. В некоторых вариантах осуществления может быть использован самокомплементарный вектор, *например*, scAAV (*см., например*, Wu, 2007, Human Gene Therapy, 18(2):171-82, McCarty et al, 2001, Gene Therapy, Vol 8, Number 16, Pages 1248-1254 и патенты США №№ 6596535; 7125717; и 7456683, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, используемые в способах, описанных в настоящем документе, представляют собой вирусные векторы на основе аденовируса. Рекомбинантный аденовирусный вектор может быть использован для переноса трансгена, кодирующего HuPTM mAb или HuGlyFab, или антигенсвязывающий фрагмент. Рекомбинантный аденовирус может представлять собой вектор первого поколения с делецией E1, с делецией E3 или без нее и с кассетой экспрессии, вставленной в любую удаленную область. Рекомбинантный аденовирус может представлять собой вектор второго поколения, который содержит полные или частичные делеции областей E2 и E4. Хелпер-зависимый аденовирус сохраняет только инвертированные концевые повторы аденовируса и сигнал упаковки (phi). Трансген вставляется между сигналом упаковки и 3'ITR, со спейсерными последовательностями или без них, чтобы поддерживать геном близким к размеру дикого типа, приблизительно 36 т.п.н. Иллюстративный протокол для получения аденовирусных векторов можно найти в публикации Alba et al., 2005,"Gutless adenovirus: last generation adenovirus for gene therapy," Gene Therapy 12:S18-S27, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, используемые в способах, описанных в настоящем документе, представляют собой вирусные векторы на основе лентивируса. Рекомбинантный лентивирусный вектор может быть использован для переноса трансгена, кодирующего антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAh. Для создания конструкции используют четыре плазмиды: содержащую последовательность Gag/pol плазмиду; содержащую последовательность Rev плазмиду; содержащую белок оболочки плазмиду (*например*, VSV-G); и плазмиду Cis с элементами упаковки и геном антигенсвязывающего фрагмента анти-VEGF.

Для получения лентивирусного вектора четыре плазмиды котрансфицируют в клетки (*например*, клетки на основе HEK293), в результате чего полиэтиленимин или фосфат кальция могут быть использованы, среди прочего, в качестве агентов для трансфекции. Затем лентивирус собирают в супернатанте (лентивирусы должны выделяться из клеток, чтобы быть активными, поэтому не нужно/не следует собирать клетки). Супернатант фильтруют (0,45 мкм), и затем добавляют хлорид магния и бензоназу. Дальнейшие последующие процессы могут широко варьироваться, при этом использование TFF и колоночной хроматографии наиболее согласуется с надлежащей производственной практикой (GMP). Другие используют ультрацентрифугирование с колоночной хроматографией или без нее. Иллюстративные протоколы для получения

лентивирусных векторов можно найти в Lesch et al., 2011,"Production and purification of lentiviral vector generated in 293T suspension cells with baculoviral vectors," Gene Therapy 18:531-538, и Ausubel et al., 2012,"Production of CGMP-Grade Lentiviral Vectors," Bioprocess Int. 10(2):32-43, обе из которых полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

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

5.1.3 Промоторы и модификаторы экспрессии генов

В некоторых вариантах осуществления векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты, которые модулируют доставку генов или экспрессию генов (*например*, «элементы контроля экспрессии»). В некоторых вариантах осуществления векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты, которые модулируют экспрессию генов. В некоторых вариантах осуществления векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты, которые влияют на связывание или нацеливание на клетки. В некоторых вариантах осуществления векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты, которые влияют на локализацию полинуклеотида (*например*, трансгена) в клетке после захвата. В некоторых вариантах осуществления векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты, которые можно использовать в качестве обнаруживаемых или селектируемых маркеров, *например*, для обнаружения или отбора клеток, которые захватили полинуклеотид.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат один или несколько промоторов, которые контролируют экспрессию трансгена. В некоторых вариантах осуществления промотор представляет собой конститутивный промотор. В некоторых вариантах осуществления промотор представляет собой промотор CB7 (также называемый промотором CAG) (см. публикацию Dinculescu et al., 2005, Hum Gene Ther 16: 649-663, полностью включенную в настоящий документ посредством ссылки). В некоторых вариантах осуществления промотор CAG или CB7 (SEQ ID NO: 411) включает другие элементы контроля экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого

вектором. В некоторых вариантах осуществления другие элементы контроля экспрессии включают интрон β-актина курицы и/или сигнал поли-А β-глобина кролика. В некоторых вариантах осуществления промотор содержит ТАТА-бокс. В некоторых вариантах осуществления промотор содержит один или более элементов. В некоторых вариантах осуществления один или более элементов промотора могут быть инвертированы или перемещены относительно друг друга. В некоторых вариантах осуществления элементы промотора располагаются так, чтобы функционировать совместно. В некоторых вариантах осуществления элементы промотора располагаются так, чтобы функционировать независимо. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат один или более промоторов, выбранных из группы, состоящей из промотора немедленного раннего гена CMV человека, раннего промотора SV40, длинного концевого повтора вируса саркомы Рауса (RS) и промотора крысиного инсулина. В некоторых вариантах осуществления векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат один или более промоторов с длинным концевым повтором (LTR), выбранных из группы, состоящей из LTR AAV, MLV, MMTV, SV40, RSV, HIV-1 и HIV-2. В некоторых вариантах осуществления векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат один или более тканеспецифических промоторов (например, специфический для пигментных эпителиальных клеток сетчатки, специфический для ЦНС промотор, специфический для печени промотор или специфический для мышц промотор). В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат промотор RPE65 или опсиновый промотор (специфический для клеток сетчатки/ЦНС промотор). В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат промотор, специфический для клеток печени, такой как промотор TBG (тироксинсвязывающий глобулин) (SEQ ID NO: 423), промотор APOA2, промотор SERPINA1 (hAAT), промотор ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412) или промотор MIR122. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор, обеспеченный в настоящем документе, содержит специфический для мышц промотор, такой как человеческий промотор десмина (Jonuschies et ah, 2014, Curr. Gene Ther. 14:276-288), промотор CK8 (SEQ ID NO: 413; Himeda et al., 2011 Muscle Gene Therapy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, Dongsheng Duan (ed.), 709:3-19; SEQ ID NO: 413), или промотор Pitx3 (Coulon et ah, 2007, JBC 282: 33192). В других вариантах осуществления вирусный вектор содержит промотор VMD2. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор по настоящему

изобретению содержит синтетические и тандемные промоторы, например, промоторы, приведенные в таблице 1 ниже.

В некоторых вариантах осуществления промотор представляет собой индуцируемый промотор. В некоторых вариантах осуществления промотор представляет собой индуцируемый гипоксией промотор. В некоторых вариантах осуществления промотор содержит сайт связывания индуцируемого гипоксией фактора (HIF). В некоторых вариантах осуществления промотор содержит сайт связывания HIF-1α. В некоторых вариантах осуществления промотор содержит сайт связывания HIF-2α. В некоторых вариантах осуществления сайт связывания HIF содержит мотив RCGTG. Для получения подробной информации относительно местоположения и последовательности сайтов связывания HIF *см., например*, публикацию Schodel, et al., Blood, 2011, 117(23):e207-e217, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления промотор содержит сайт связывания для индуцируемого гипоксией фактора транскрипции, отличного от фактора транскрипции HIF. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат один или более сайтов IRES, которые предпочтительно транслируются при гипоксии. Для получения информации относительно индуцируемой гипоксией экспрессии генов и факторов, вовлеченных в нее, *см., например*, публикацию Kenneth and Rocha, Biochem J., 2008, 414:19-29, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В конкретных вариантах осуществления индуцируемый гипоксией промотор представляет собой человеческий промотор N-WASP, *см., например*, Salvi, 2017, Biochemistry and Biophysics Reports 9:13-21 (включенную посредством ссылки для идеи промотора N-WASP) или представляет собой индуцируемый гипоксией промотор Epo человека, *см., например*, публикацию Tsuchiya et al., 1993, J. Biochem. 113:395-400 (включенную посредством ссылки для раскрытия индуцируемого гипоксией промотора Epo). В других вариантах осуществления промотор представляет собой, индуцируемый лекарственным средством промотор, например, промотор, который индуцируется введением рапамицина или его аналогов. *См., например*, раскрытие индуцируемых рапамицином промоторов в публикациях PCT WO94/18317, WO 96/20951, WO 96/41865, WO 99/10508, WO 99/10510, WO 99/36553 и WO 99/41258 и US 7067526, которые полностью включены в настоящий документ в качестве ссылки для раскрытия индуцируемых лекарственными средствами промоторов.

В настоящем документе обеспечены конструкции, содержащие определенные универсальные и тканеспецифические промоторы. Такие промоторы включают синтетические и тандемные промоторы. Примеры и нуклеотидные последовательности промоторов представлены в таблице 1 ниже.

Таблица 1. Последовательности промоторов и других регуляторных элементов

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
LSPX1 SEQ ID NO: 315	aggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgt ttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaaaaagca gtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgtttgctctggttaataatctc aggagcacaaacattccagatccggcgcgccagggctggaagctacctttgtctagaaggctc agaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccttccaaccctcagttcccatcctcc agcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccc taaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgctgacct tggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccactcgacc ccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtgagaggg gtacccggggatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggc cagctaagtggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttggacacag gacgctgtggtttctgagccaggtacaatgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtaca ctgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttag cccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccg ttgcccctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcag gcaccaccactgacctgggacagt
LSXP2 SEQ ID NO: 316	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccttccaaccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccctggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggtctagaaggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccttccaacc cctcagttcccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaact tcagcctactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagcc ctccctgcctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacc tccaacatccactcgacccctggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggt ttaggtagtgtgagaggggtacccggggatcttgctaccagtggaacagccactaaggattct gcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctcccagagactgtctgactcacgccaccc cctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacaatgactcctttcggtaag tgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagat cccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatatt caccagcagcctcccccgttgcccctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggcc ctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LTP1 SEQ ID NO: 317	aggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgt ttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaaaaagca gtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgtttgctctggttaataatctc aggagcacaaacattccagatccggcgcgccagggctggaagctacctttgacatcatttcct ctgcgaatgcatgtataatttctacagaacctattagaaaggatcacccagcctctgcttttg tacaactttcccttaaaaaactgccaattccactgctgtttggcccaatagtgagaacttttt cctgctgcctcttggtgcttttgcctatggcccctattctgcctgctgaagacactcttgcca gcatggacttaaacccctccagctctgacaatcctctttctcttttgttttacatgaagggtc tggcagccaaagcaatcactcaaagttcaaaccttatcatttttgctttgttcctcttggcc ttggttttgtacatcagctttgaaaataccatcccagggttaatgctggggttaatttataac taagagtgctctagttttgcaatacaggacatgctataaaaatggaaagatgttgctttctga gaggatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagcta agtggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttggacacaggacgct gtggtttctgagccaggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgccc

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	aggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctg tttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgccc ctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcacca ccactgacctgggacagt
LTP2 SEQ ID NO: 318	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccccttccaaccccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggtctagagcccttaagctagcaggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtgg cccttggcagcatttactctctctgtttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattcc agatccaggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactct ctctgtttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccggcgcgccagggct ggaagctacctttgacatcatttcctctgcgaatgcatgtataatttctacagaacctattag aaaggatcacccagcctctgcttttgtacaactttcccttaaaaaactgccaattccactgct gtttggcccaatagtgagaacttttcctgctgcctcttggtgcttttgcctatggccctat tctgcctgctgaagacactcttgccagcatggacttaaacccctccagctctgacaatcctct ttctcttttgttttacatgaagggtctggcagccaaagcaatcactcaaagttcaaaccttat cattttttgctttgttcctcttggccttggttttgtacatcagctttgaaaataccatcccag ggttaatgctggggttaatttataactaagagtgctctagttttgcaatacaggacatgctat aaaaatggaaagatgttgctttctgagaggatcttgctaccagtggaacagccactaaggatt ctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctcccagagactgtctgactcacgccac cccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacagtgactcctttcggta agtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcag atcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaata ttcaccagcagcctcccccgttgcccctctggatccactgcttaaatacggacgaggacaggg ccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LTP3 SEQ ID NO: 319	aggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgt ttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaaaaagca gtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgtttgctctggttaataatctc aggagcacaaacattccagatccggcgcgccagggctggaagctacctttgacatcatttcct ctgcgaatgcatgtataatttctacagaacctattagaaaggatcacccagcctctgcttttg tacaactttcccttaaaaaactgccaattccactgctgtttggcccaatagtgagaacttttt cctgctgcctcttggtgcttttgcctatggcccctattctgcctgctgaagacactcttgcca gcatggacttaaacccctccagctctgacaatcctctttctcttttgttttacatgaagggtc tggcagccaaagcaatcactcaaagttcaaaccttatcatttttgctttgttcctcttggcc ttggttttgtacatcagctttgaaaataccatcccagggttaatgctggggttaatttataac taagagtgctctagttttgcaatacaggacatgctataaaaatggaaagatgttgctttctga gaggatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagcta agtggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgct gtggtttctgagccaggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgccc aggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctg tttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgccc ctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcacca ccactgacctgggacagtaaaacaggtaagtccgctgtttgtgtgctgcctctgaagtccaca ctgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagca aacacacagccctccctgcctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctggc ctctactaaccatgttcatgttttctttttttttctacaggtcctgggtgacgaacag
LMTP6 SEQ ID NO: 320	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccccttccaaccccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggccactacgggtttaggctgcccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatg cctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccccccccaacacctgctgcctctaa aaataaccctgtccctggtggatcccactacgggtttaggctgcccatgtaaggaggcaaggc ctggggacacccgagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgcccccccccccccc aacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtggatcccactacgggtttaggctgcc catgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataattaacccagacatgtg

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	gctgccccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtggatcccc tgcatgcgaagatcttcgaacaaggctgtgggggactgagggcaggctgtaacaggcttgggg gccagggcttatacgtgcctgggactcccaaagtattactgttccatgttcccggcgaagggc cagctgtcccccgccagctagactcagcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttt ggggcagcccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcctgggtccggggtgggcacg gtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggcccctccctggggacagcccct cctggctagtcacaccctgtaggctcctctatataacccaggggcacaggggctgccctcatt ctaccaccacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcgagatcttgctac cagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctccc agagactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagcc aggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccg ggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgat aactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctggatccactg cttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctggga cagt
LMTP13 SEQ ID NO: 321	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgcccccttccaaccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggtacccggggatcttgctaccagtctagaggccgtccgccctcggcaccatcctcac gacacccaaatatggcgacgggtgaggaatggtggggagttatttttagagcggtgaggaagg tgggcaggcagcaggtgttggcgctctaaaaataactcccgggagttatttttagagcggagg aatggtggacacccaaatatggcgacggttcctcacccgtcgccatatttgggtgtccgccct cggccggggccgcattcctgggggccgggcggtgctcccgcccgcctcgataaaaggctccgg ggccggcggcggcccacgagctacccggaggagcgggaggcgccaagcgtgagtatcgatctt gctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtact ctcccagagactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttct gagccaggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagc gtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcct ccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctggatc cactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacc tgggacagt
LMTP14 SEQ ID NO: 322	gaatggtggacacccaaatatggcgacggttcctcacccgtcgccatatttgggtgtccgccc tcggccggggccgcattcctgggggccgggcggtgctcccgcccgcctcgataaaaggctccg gggccggcggcggcccacgagctacccggaggagcgggaggcgccaagcgatcttgctaccag tggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctcccaga gactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccagg tacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggc agcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataac tggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctggatccactgctt aaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacag t
LMTP15 SEQ ID NO: 323	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgcccccttccaaccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggtctagagaatggtggacacccaaatatggcgacggttcctcacccgtcgccatattt gggtgtccgccctcggccggggccgcattcctgggggccgggcggtgctcccgcccgcctcga taaaaggctccggggccggcggcggcccacgagctacccggaggagcgggaggcgccaagcga tcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtgg tactctcccagagactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggt ttctgagccaggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggca aagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgc tcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctg gatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccact gacctgggacagt

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
LMTP18 SEQ ID NO: 324	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccctccaaccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccctggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggccactacgggtttaggctgcccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatg cctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccccccccaacacctgctgcctctaa aaataaccctgtccctggtggatcccctgcatgcgaagatcttcgaacaaggctgtgggggac tgagggcaggctgtaacaggcttgggggccagggcttatacgtgcctgggactcccaaagtat tactgttccatgttcccggcgaagggccagctgtcccccgccagctagactcagcacttagtt taggaaccagtgagcaagtcagcccttggggcagcccatacaaggccatggggctgggcaagc tgcacgcctgggtccggggtgggcacggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctc aggggcccctccctggggacagcccctcctggctagtcacaccctgtaggctcctctatataa cccaggggcacaggggctgccctcattctaccaccacctccacagcacagacagacactcagg agccagccagcgtcgagatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagc agagggccagctaagtggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttg gacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaag ctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtg gacttagcccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcc tcccccgttgcccctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctca gcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LMTP19 SEQ ID NO: 325	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccctccaaccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccctggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggccctgcatgcgaagatcttcgaacaaggctgtggggactgagggcaggctgtaaca ggcttgggggccagggcttatacgtgcctgggactcccaaagtattactgttccatgttcccg gcgaagggccagctgtcccccgccagctagactcagcacttagtttaggaaccagtgagcaag tcagcccttggggcagcccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcctgggtccggg gtgggcacggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggcccctccctgggg acagcccctcctggctagtcacaccctgtaggctcctctatataacccaggggcacaggggct gccctcattctaccaccacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcgaga tcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtgg tactctcccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttggacacaggacgctgtggt ttctgagccaggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggca aagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgc tcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctg gatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccact gacctgggacagt
LMTP20 SEQ ID NO: 326	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccctccaaccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccctggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggcccttcagattaaaaataactgaggtaagggcctgggtaggggaggtggtgtgagac gctcctgtctctcctctatctgcccatcggccctttggggaggaggaatgtgcccaaggacta aaaaaaggccatggagccagaggggcgagggcaacagacctttcatgggcaaaccttggggcc ctgctgaagctttggcccactacgggtttaggctgcccatgtaaggaggcaaggcctggggac acccgagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccccccccaacacctg ctgcctctaaaaataaccctgtccctggtggatcccctgcatgcgaagatcttcgaacaaggc tgtgggggactgagggcaggctgtaacaggcttgggggccagggcttatacgtgcctgggact cccaaagtattactgttccatgttcccggcgaagggccagctgtcccccgccagctagactca gcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttggggcagcccatacaaggccatgggg ctgggcaagctgcacgcctgggtccggggtgggcacggtgcccgggcaacgagctgaaagctc atctgctctcaggggcccctccctggggacagcccctcctggctagtcacaccctgtaggctc ctctatataacccaggggcacaggggctgccctcattctaccaccacctccacagcacagaca gacactcaggagccagccagcgtcgagatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctg cagtgagagcagagggccagctaagtggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccc

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	ctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacagtgactcctttcggtaagt gcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatc ccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatattc accagcagcctcccccgttgcccctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccc tgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LBTP1 SEQ ID NO: 327	aggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgt ttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaaaaagca gtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgtttgctctggttaataatctc aggagcacaaacattccagatccggcgcgccagggctggaagctacctttgtctagaaggctc agaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccttccaacccctcagttcccatcctcc agcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccc taaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgctgacct tggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccactcgacc ccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtgagaggg gtacccggggatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggc cagctaagtggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttggacacag gacgctgtggtttctgagccaggtacaatgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtaca ctgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttag cccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccg ttgcccctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcag gcaccaccactgacctgggacagt
LBTP2 SEQ ID NO: 328	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccctccaaccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccctggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agagggcacacatacacgaacacacatacatatacatacattcacatatatgcacacacatac acatatacacgcatacacgtacacacaaatgcacactcacacatgcacacacatacataatat acacactctcacacatgcacatacacacatacatacacatacatgtgcatgcacacacacaaa tacacatgcatacatccacattcacacagatgcagacacaaatgcacacacacacacacacac acacacacacacacacacacacacgcacactgccaccctgaactagtggtggctaaatgaaca ataagtctccatcaccagcttgggggggaggtaggtggtagtgtaggtgcccccattgtgtgat catgttcattgtatgagtttgtctgtgttcattcatcatagtgacagtccccatgtgggtagc agagagtacgtgtgcatgcatcatctccgtgtttgctcatgagtgtgtatgtcagtgtgttcc agtctttctgtgtgagtgtcgtccccaatcccccatcccccccccccagatctctaattagtgg tttggggtttgttccttttccctcctgttcctttcctcagcagcgcggcagcagcggcggcag cctcggtggtagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcaacag aagctgccgcgccgctgagtagcagcaaggactccgagtcaagagtaggattgtaggattgga tctgagtgggaacaagagtgagctggcctgagagaggagcagatgcctcccagcgccctcagg ccacccattgccagtaatcttcaagccagacctcttgagaggagacgggacagccaaccctag cctacccaggtacagacactgggcagttctgggggactgcccacagatgcctattggattcct ggggtatgtaggactcccgggtctaccagccctttcacctttccccatagcacccccaagga agctctgacaacttgcccatattcctgtttcccacccgtcccctgggcacccccttttcttct ctccctcccagatcccttctttggggagctcagcaaatggagcaggaaatttggaccctctgc ctccctctctcgccttcctcattggatccggagtcttctccgctgggaaagctgtaattagag ggtggatccctacagacagagagcagccccccacccccacccccagtcccttctaacttta gatctcttctctcccattctcccattctccctccctctcccttctccctctcccactggctcc tcggttctctccatctgcctgactccttgggacccggtccccagatcttgctaccagtggaac agccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctcccagagactgt ctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacagt gactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgta ggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataactggggt gaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctggatccactgcttaaatac ggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
SP7 SEQ ID NO: 329	cacacatacacgaacacacatacatatacatacattcacatatatgcacacacatacacatat acacgcatacacgtacacacaaatgcacactcacacatgcacacacatacataatatacacac tctcacacatgcacatacacacatacatacacatacatgtgcatgcacacacacaaatacaca tgcatacatccacattcacacagatgcagacacaaatgcacacacacacacacacacacacac acacacacacacacacacacacgcacactgccaccctgaactagtggtggctaaatgaacaataagt

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	ctccatcaccagcttgggggaggtaggtggtagtgtaggtgcccccattgtgtgatcatgtt cattgtatgagtttgtctgtgttcattcatcatagtgacagtccccatgtgggtagcagagag tacgtgtgcatgcatcatctccgtgtttgctcatgagtgtgtatgtcagtgtgttccagtctt tctgtgtgagtgtcgtccccaatcccccatccccccccccagatctctaattagtggtttggg gtttgttccttttccctcctgttcctttcctcagcagcgcggcagcagcggcggcagcctcgg tggtagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcaacagaagctg ccgcgccgctgagtagcagcaaggactccgagtcaagagtaggattgtaggattggatctgag tgggaacaagagtgagctggcctgagagaggagcagatgcctcccagcgccctcaggccaccc attgccagtaatcttcaagccagacctcttgagaggagacgggacagccaaccctagcctacc caggtacagacactgggcagttctgggggactgcccacagatgcctattggattcctggggta tgtaggactcccgggtctaccagccctttcacctttccccatagcacccccaaggaagctct gacaacttgcccatattcctgtttcccacccgtcccctgggcacccccttttcttctctccct cccagatcccttctttggggagctcagcaaatggagcaggaaatttggaccctctgcctccct ctctcgccttcctcattggatccggagtcttctccgctgggaaagctgtaattagagggtgga tccctacagacagagagcagccccccccacccccacccccagtcccttctaactttagatctc ttctctcccattctcccattctccctccctctcccttctccctctcccactggctcctcggtt ctctccatctgcctgactccttgggacccggtcccca
minSP7 SEQ ID NO: 330	cgcggcagcagcggcggcagcctcggtggtagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc agcagcagcagcagcaacagaagctgccgcgccgctgagtagcagcaaggactccgagtcaag agtaggattgtaggattggatctgagtgggaacaagagtgagctggcctgagagaggagcaga tgcctcccagcgccctcaggccacccattgccagtaatcttcaagccagacctcttgagagga gacgggacagccaaccctagcctacccaggtacagacactgggcagttctgggggactgccca cagatgcctattggattcctggggtatgtaggactcccgggtctaccagccctttcaccttt ccccatagcacccccaaggaagctctgacaacttgcccatattcctgtttcccacccgtcccc tgggcaccccctttttcttctctccctcccagatcccttctttggggagctcagcaaatggagc aggaaatttggaccctctgcctccctctctcgccttcctcattggatccggagtcttctccgc tgggaaagctgtaattagagggtggatccctacagacagagagcagccccccccacccccaccc cccagtcccttctaactttagatctcttctctcccattctcccattctccctccctctccctt ctccctctcccactggctcctcggttctctccatctgcctgactccttgggacccggtcccca
ApoE.hAAT SEQ ID NO: 412	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccctttccaaccctcagttccca tcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactca tgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgc tgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccac tcgacccctggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtg agaggggtacccggggatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagca gagggccagctaagtggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttgg acacaggacgctgtggtttctgagccaggtacaatgactcctttcggtaagtgcagtggaagc tgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtgg acttagcccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcct cccccgttgcccctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcag cttcaggcaccaccactgacctgggacagt
CAG/CB7 SEQ ID NO: 411	gacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcccat atatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacc cccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccatt gacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcata tgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagt acatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattacca tggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatctccccccccctccccacccccaa ttttgtatttatttatttttttaattattttgtgcagcgatgggggcgggggggggggggggggc gcgcgccaggcggggcggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggagaggtgcggcgg cagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcggc cctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtgcccc gctccgccgccgcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtga gcgggcgggacggcccttctcctccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggcttgttt cttttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggggagcg gctcgggggggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgctgcccg gcggctgtgagcgctgcgggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcgcgagggga gcgcggccgggggcggtgccccgcggtgcgggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgc ggggtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggggtgtgggcgcgtcggtcgggctgcaacccccccc

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	tgcacccccctccccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggggctccgtacggggc gtggcgcggggctcgccgtgccgggcgggggggtggcggcaggtgggggtgccgggcggggcgg ggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggggcgcggcggcccccggagcgccggcggct gtcgaggcgcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgtgcgagagggcgcagggac ttcctttgtcccaaatctgtgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcacccccctctagcg ggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggggagggccttcgtgcgt cgccgcgccgccgtcccctttctccctctccagcctcggggctgtccgcgggggggacggctgcc ttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcggctctagagcct ctgctaaccatgttcatgccttcttcttttttcctacagctcctgggcaacgtgctggttattg tgctgtctcatcattttggcaaag
CK8 SEQ ID NO: 413	ccactacgggtttaggctgcccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggt tataattaacccagacatgtggctgccccccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataa ccctgtccctggtggatcccactacgggtttaggctgcccatgtaaggaggcaaggcctgggg acacccgagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccccccccaacacc tgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtggatcccactacgggtttaggctgcccatgta aggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgcc ccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtggatcccctgcatg cgaagatcttcgaacaaggctgtgggggactgagggcaggctgtaacaggcttgggggccagg gcttatacgtgcctgggactcccaaagtattactgttccatgttcccggcgaagggccagctg tccccccgccagctagactcagcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttggggca gcccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcctgggtccggggtgggcacggtgccc gggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggcccctccctggggacagcccctcctggc tagtcacaccctgtaggctcctctatataacccaggggcacaggggctgccctcattctacca ccacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcga
mU1a SEQ ID NO: 414	atggaggcggtactatgtagatgagaattcaggagcaaactgggaaaagcaactgcttccaaa tatttgtgatttttacagtgtagttttggaaaaactcttagcctaccaattcttctaagtgtt ttaaaatgtgggagccagtacacatgaagttatagagtgttttaatgaggcttaaatatttac cgtaactatgaaatgctacgcatatcatgctgttcaggctccgtggccacgcaactcatact
EF-1α SEQ ID NO: 415	gggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggcaattgaacgg gtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttt ttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttctttttcgca acgggtttgccgccagaacacag
TBG SEQ ID NO: 423	gggctggaagctacctttgacatcatttcctctgcgaatgcatgtataatttctacagaacct attagaaaggatcacccagcctctgcttttgtacaactttcccttaaaaaactgccaattcca ctgctgtttggcccaatagtgagaacttttttcctgctgcctcttggtgcttttgcctatggcc cctattctgcctgctgaagacactcttgccagcatggacttaaaccccctccagctctgacaat cctctttctcttttgttttacatgaagggtctggcagccaaagcaatcactcaaagttcaaac cttatcatttttttgctttgttcctcttggccttggttttgtacatcagctttgaaaataccat cccagggttaatgctggggttaatttataactaagagtgctctagttttgcaatacaggacat gctataaaaat ggaaagat
Химерный интрон SEQ ID NO: 416	gtaagtatcaaggttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactgggcttgtcgagacag agaagactcttgcgtttctgataggcacctattggtcttactgacatccactttgccctttctc tccacag
VH4 интрон SEQ ID NO: 417	gtgagtatctcagggatccagacatggggatatgggaggtgcctctgatcccagggctcactg tgggtctctctgttcacag
5'ITR SEQ ID NO: 418	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggt cgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggt tcct

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
5’-ITR (Делетированная D-послед-ть для само-комплемент. AAV) SEQ ID NO: 419	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtgg
3’-ITR AAV SEQ ID NO: 420	gaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgccccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaa
3’-ITR (Делетированная D-послед-ть для само-комплемент. AAV) SEQ ID NO: 421	ttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcag

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат один или более регуляторных элементов, отличных от промотора. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат энхансер. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат репрессор. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат интрон (например, интрон VH4 (SEQ ID NO: 417) или химерный интрон (SEQ ID NO: 416). В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат последовательность полиаденилирования.

Обеспечены кассеты экспрессии генов и rAAV, содержащие кассеты экспрессии генов, в которых экспрессия трансгена контролируется сконструированными регуляторными элементами нуклеиновых кислот, которые имеют более одного регуляторного элемента (промотор или энхансер), включая регуляторные элементы, которые расположены в тандеме (две или три копии), которые способствуют специфической для печени экспрессии, или специфической для печени и специфической для мышц экспрессии, или специфической для печени и специфической для костной ткани экспрессии. Эти регуляторные элементы включают

для специфической для печени экспрессии LSPX1 (SEQ ID NO: 315), LSPX2 (SEQ ID NO: 316), LTP1 (SEQ ID NO: 317), LTP2 (SEQ ID NO: 318) или LTP3 (SEQ ID NO: 319), для экспрессии в печени и мышцах LMTP6 (SEQ ID NO: 320), LMTP13 (SEQ ID NO: 321), LMTP14 (SEQ ID NO: 322), LMTP15 (SEQ ID NO : 323), LMTP18 (SEQ ID NO: 324), LMTP19 (SEQ ID NO: 325) или LMTP20 (SEQ ID NO: 326), или экспрессии в печени и костной ткани LBTP1 (SEQ ID NO: 327) или LBTP2 (SEQ ID NO: 328), последовательности которых представлены в таблице 1 выше.

5.1.4 Сигнальные пептиды

В некоторых вариантах осуществления векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат компоненты, которые модулируют доставку белка. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат один или несколько сигнальных пептидов. Сигнальные пептиды также могут упоминаться в настоящем документе как «лидерные последовательности» или «лидерные пептиды». В некоторых вариантах осуществления сигнальные пептиды позволяют трансгенному продукту достигать надлежащей упаковки (*например*, гликозилирования) в клетке. В некоторых вариантах осуществления сигнальные пептиды позволяют трансгенному продукту достигать надлежащей локализации в клетке. В некоторых вариантах осуществления сигнальные пептиды позволяют трансгенному продукту достигать секреции из клетки.

Существует два основных подхода к выбору сигнальной последовательности для продукции белка в контексте генной терапии или в культуре клеток. Один из подходов заключается в использовании сигнального пептида из белков, гомологичных экспрессируемому белку. Например, сигнальный пептид человеческого антитела можно использовать для экспрессии IgG в CHO или других клетках. Другой подход заключается в идентификации сигнальных пептидов, оптимизированных для конкретных клеток-хозяев, используемых для экспрессии. Сигнальные пептиды могут быть взаимозаменяемыми между разными белками или даже между белками разных организмов, но обычно для экспрессии белка используются сигнальные последовательности наиболее распространенных секретируемых белков этого типа клеток. Например, было обнаружено, что сигнальный пептид человеческого альбумина, наиболее распространенного белка в плазме, значительно увеличивает выход белка в клетках CHO. Однако определенные сигнальные пептиды могут сохранять функцию и проявлять активность после отщепления от экспрессированного белка в качестве «постнацеливающих функций». Таким образом, в конкретных

вариантах осуществления сигнальный пептид выбран из сигнальных пептидов наиболее распространенных белков, секретируемых клетками, используемыми для экспрессии, чтобы избежать постнацеливающих функций. В определенном варианте осуществления сигнальная последовательность слита с последовательностями как тяжелых, так и легких цепи. Иллюстративной последовательностью является MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146), которая может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 422 (см. таблицу 2, фиг. 2-19 и фиг. 29A-29F). Альтернативно, сигнальные последовательности, которые подходят для экспрессии и могут вызывать селективную экспрессию или направленную экспрессию HuPTM mAb или Fab, или scFv в глазу (включая ЦНС), мышцах или печени, представлены, соответственно, ниже в таблицах 2, 3 и 4.

Таблица 2. Сигнальные пептиды для экспрессии в ткани глаза/ЦНС

Происхождение сигнального пептида	SEQ ID NO:	Последовательность
Сигнальный пептид мутантный интерлейкин 2	146	MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Кодирующая последовательность сигнального пептида мутантного интерлейкина 2	422	atgtataggatgcaactgctcctcctgattgctctgagcctggctctttgtgaccnactct
Сигнальный пептид VEGF-A	147	MNFLLSWVHWSLALLLYLHHAKWSQA
Сигнальный пептид фибулин-1	148	MERAAPSRRVPLPLLLLGGLALLAAGVDA
Сигнальный пептид антрокетин	149	MAPLRPLLILALLAWVALA
Сигнальный пептид фактор комплемента H	150	MRLLAKIICLMLWAICVA
Сигнал пептид апипин	151	MRLLAFLSLLALVLQETGT
Сигнальный пептид альбумин	152	MKWVTFISLLFLFSSAYS
Сигнальный пептид хемодрициноген	153	MAFLWLLSCWALLGTTFG
Сигнальный пептид интерлейкин-2	154	MYRMQLLSCIALILALVTNS
Сигнальный пептид тризиноген-2	155	MNLLLILTFVAAAVA

Таблица 3. Сигнальные пептиды для экспрессии в мышечных клетках

Происхождение сигнального пептида	SEQ ID NO:	Последовательность
SPARC человека	156	MRAWIFFLLCLAGRALA
Альфа-1 цепи коллагена (I) человека	157	MFSFVDLRLLLLLAATALLTHG
Лактотрансферрин челов	158	MKLVFLVLLFLGALGLCLA
Комплемент C3 человека	159	MGPTSGPSLLLLLLTHLPLALG
Декорин человека	160	MSLSAFTLFLALIGGTSG
Гельзолин изоформа1 чел	161	MAPHRPAPALLCALSLALCALSLPVRA

Происхождение сигнального пептида	SEQ ID NO:	Последовательность
Прокатепсин H человека	162	MWATLPLLCAGAWLLGVPVCGA
SERPINF1 человека	163	MQALVLLLCIGALLGHSSC
SERPINE1 человека	164	MQMSPALTCLVLGLALVFGEGSA
Катепсин D человека	165	MQPSSLLPLALCLLAAPASA
TIMP1 человека	166	MAPFEPLASGILLLLWLIAPSRA
Фибронектин человека	167	MLRGPGPGLLLLAVQCLGTAVPSTGASKSKR
Субкомпонент C1s комплемента человека	168	MWCTVLFSLLAWVYA
Катепсин L1 человека	169	MNPTLILAAFCLGLASA
Катепсин B человека	170	MWQLWASLCCLLVLANA
Слюнной кислый богатый пролином фосфопротеин 1/2 человека	171	MLLILLSVALLAFSSA
Фолистатин-связанный белок 1 человека	172	MWKRWLALALALVAVAWVRA

Таблица 4. Сигнальные пептиды для экспрессии в клетках печени

Происхождение сигнального пептида	SEQ ID NO:	Последовательность
Сывор. альбумин человека	173	MKWVTFISLLFLFSSAYS
Human α-1 Antitrypsin (SERPINA1)	174	MPSSVSWGILLLAGLCCLVPVSLA
α-1 Антитрипсин человека (SERPINA1)	175	MKAAVLTLAVLFLTGSQA
Аполипротеин A-2 человека	176	MKLLAATVLLLTICSLEG
Аполипротеин B-100 человека	177	MDPPRPALLALLALPALLLLLLAGARA
Фактор коагуляции IX человека	178	MQRVNMIMAESPGLITICLLGYLLSAEC
Комплемент C2 человека	179	MGPLMVLFCLLFLYPGLADS
Белок 2, связанный с фактором комплемента H человека (CFHR2)	180	MWLLVSVILISRISSVGG
Белок 5, связанный с фактором комплемента H человека (CFHR5)	181	MLLLFSVILISWVSTVGG

Происхождение сигнального пептида	SEQ ID NO:	Последовательность
α-Цепь фибриногена человека (FGA)	182	MFSMRIVCLVLSVVGTAWT
β-Цепь фибриногена человека (FGB)	183	MKRMVSWSFHKLKTMKHLLLLLLCVFLVKS
γ-Цепь фибриногена человека (FGG)	184	MSWSLHPRNLILYFYALLFLSSTCVA
α-2-HS-гликопротеин человека (AHSG)	185	MKSLVLLLCLAQLWGCHS
Гемопексин человека (HPX)	186	MARVLGAPVALGLWSLCWSLAIA
Кининоген-1 человека	187	MKLITLFLCSRLLLSLT
Маннозо-связывающий белок C (MBL2) человека	188	MSLFPSLPLLLLSMVAASYS
Плазминоген человека (PLMN)	189	MEHKEVVLLLLFLKSGQG
Протромбин человека (Фактор коагуляции II)	190	MAHVRGLQLPGCLALAALCSLVHS
Секретируемый фосфопротеин 24 человека	191	MISRMEKMTMMMKLLIMFALGMNYWSCSG
Анти-тромбин-III (SERPINC1) человека	192	MYSNVIGTVTSGKRKVYLLSLLLIGFWDCVTC
Сывороточный трансферрин человека (TF)	193	MRLAVGALLVCAVLGLCLA

5.1.5 Полицистронные мРНК - линкеры IRES и 2A, и конструкции scFv

Участки внутренней посадки рибосомы. Можно сконструировать единую конструкцию для кодирования тяжелых и легких цепей, разделенных расщепляемым линкером или IRES, так чтобы отдельные полипептиды тяжелых и легких цепей экспрессировались трансдуцированными клетками. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, предоставляют полицистронные (*например*, бицистронные) мРНК. Например, вирусная конструкция может кодировать тяжелые и легкие цепи, разделенные элементами участка внутренней посадки рибосомы (IRES) (примеры использования элементов IRES для создания бицистронных векторов *см., например*, в публикации Gurtu et al., 1996, Biochem. Biophys. Res. Comm. 229(1):295-8, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Элементы IRES обходят модель сканирования рибосом и начинают трансляцию на внутренних участках. Использование IRES в AAV описано, например, в публикации Furling et al, 2001, Gene Ther 8(11):854-73, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления бицистронная мРНК содержится в вирусном векторе с ограничением размера полинуклеотида(ов) в нем. В некоторых вариантах осуществления бицистронная мРНК содержится в векторе на основе вируса AAV (*например*, в векторе на основе AAV8, AAV9 или AAVrh10).

Линкеры фурин-2A. В других вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, кодируют тяжелые и легкие цепи, разделенные расщепляемым линкером, таким как саморасщепляющиеся линкеры 2A и 2A-подобные пептиды, с сайтами расщепления фурином, расположенными апстрим, или без них, например, линкеры фурин/2A, такие как линкеры фурин/F2A (F/F2A) или фурин/T2A (F/T2A) (работа Fang et al., 2005, Nature Biotechnology 23:584-590, Fang, 2007, Mol Ther 15:1153-9, и Chang, J. et al., MAbs 2015, 7(2):403-412, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Например, линкер фурин/2A может быть включен в экспрессионную кассету для разделения кодирующих последовательностей тяжелых и легких цепей, в результате чего получается конструкция со следующей структурой:

Лидер - Тяжелая цепь - Сайт фурина - Сайт 2A - Лидер - Легкая цепь - ПолиA.

Сайт 2A или сайт 2A-подобного пептида, такой как сайт F2A, содержащий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 231), или сайт T2A, содержащий аминокислотную последовательность

RKRR(GSG)EGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO: 429), является самопроцессирующим, что приводит к «расщеплению» между конечными аминокислотными остатками G и P. Несколько линкеров, с расположенной апстрим последовательностью гибкого линкера Gly-Ser-Gly (GSG) (SEQ ID NO: 427), или без нее, которые могут быть использованы, включают, но без ограничения:

T2A: (GSG)EGRGSLLTCGDVEENP**GP** (SEQ ID NO: 227);

P2A: (GSG)ATNFSLLKQAGDVEENP**GP** (SEQ ID NO: 228);

E2A: (GSG)QCTNYALLKLAGDVESNP**GP** (SEQ ID NO: 229);

F2A: (GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNP**GP** (SEQ ID NO: 230) (см. также, например, публикацию Szymczak, et al., 2004, Nature Biotechnol 22(5):589-594, и Donnelly, et al., 2001, J Gen Virol, 82:1013-1025, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки). Иллюстративные нуклеотидные последовательности, кодирующие различные части гибкого линкера, описаны в **таблице 1-1**.

Таблица 1-1

ID	**SEQ ID NO:**	**Последовательность**
Фурин-T2A	424	agaaagagaagaggctctggagaaggcagaggctccctgctgacatgtgg ggatgttgaagagaatcctgggcct
Фурин	425	agaaagagaaga
Фурин-GSG линкер	426	agaaagagaagaggctctgga
GSG	427	ggctctgga
T2A	428	gaaggcagaggctccctgctgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcct

В некоторых вариантах осуществления дополнительный сайт протеолитического расщепления, например сайт расщепления фурином, включен в экспрессионную конструкцию рядом с самопроцессирующимся сайтом расщепления (например, последовательность 2A или 2A-подобного пептида), тем самым обеспечивая средства для удаления дополнительных аминокислот, которые остаются после расщепления самопроцессирующейся последовательностью расщепления. Без привязки к какой-либо теории, пептидная связь пропускается, когда рибосома сталкивается с последовательностью 2A в открытой рамке считывания, что приводит к прекращению трансляции или продолжению трансляции расположенной даунстрим последовательности (легкой цепи). Эта самопроцессирующаяся последовательность приводит к появлению ряда дополнительных аминокислот на конце C-конца тяжелой

цепи. Однако такие дополнительные аминокислоты могут затем расщепляться фурином клетки-хозяина в сайте(ах) расщепления фурином, например, расположенном непосредственно перед сайтом 2A и после последовательности тяжелой цепи, и дополнительно расщепляются карбоксипептидазами. Полученная тяжелая цепь может иметь одну, две, три или более дополнительных аминокислот, включенных в С-конец, или может не содержать таких дополнительных аминокислот, в зависимости от последовательности используемого линкера фурина и карбоксипептидазы, которая расщепляет линкер in vivo (*см., например*, Fang et al., 17 April 2005, Nature Biotechnol. Advance Online Publication; Fang et al., 2007, Molecular Therapy 15(6): 1153-1159; Luke, 2012, Innovations in Biotechnology, Ch. 8, 161-186). Фуриновые линкеры, которые можно использовать, содержат серии из четырех основных аминокислот, например, RKRR (SEQ ID NO: 222), RRRR (SEQ ID NO: 223), RRKR (SEQ ID NO: 224) или RKKR (SEQ ID NO: 225). После того, как этот линкер расщепляется карбоксипептидазой, могут оставаться дополнительные аминокислоты, так что на С-конце тяжелой цепи могут оставаться дополнительные ноль, одна, две, три или четыре аминокислоты, например, R, RR, RK, RKR, RRR, RRK, RKK, RKRR (SEQ ID NO: 222), RRRR (SEQ ID NO: 223), RRKR (SEQ ID NO: 224) или RKKR (SEQ ID NO: 225). В некоторых вариантах осуществления после того, как линкер расщепляется карбоксипептидазой, дополнительных аминокислот не остается. В некоторых вариантах осуществления от 0,5% до 1%, от 1% до 2%, 5%, 10%, 15% или 20% антитела, например, антигенсвязывающего фрагмента, популяции, продуцируемой конструкциями, для применения в описанных в настоящем документе способах, содержат одну, две, три или четыре аминокислоты, которые остаются на С-конце тяжелой цепи после расщепления. В некоторых вариантах осуществления фуриновый линкер характеризуется последовательностью R-X-K/R-R, так что дополнительные аминокислоты на С-конце тяжелой цепи представляют собой R, RX, RXK, RXR, RXKR или RXRR, где X представляет собой любую аминокислоту, например, аланин (A). В некоторых вариантах осуществления никакие дополнительные аминокислоты не могут оставаться на С-конце тяжелой цепи.

Гибкий пептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления может быть сконструирована единая конструкция для кодирования тяжелых и легких цепей (например, вариабельных доменов тяжелых и легких цепей), разделенных гибким пептидным линкером, таким как те, которые кодируют scFv. Гибкий пептидный линкер может состоять из гибких остатков, таких как глицин и серин, так что смежные домены

тяжелой цепи и легкой цепи могут свободно перемещаться относительно друг друга. Конструкция может быть выполнена таким образом, что вариабельный домен тяжелой цепи находится на N-конце scFv, за которым следует линкер, а затем вариабельный домен легкой цепи. Альтернативно, конструкция может быть устроена так, что вариабельный домен легкой цепи находится на N-конце scFv, за которым следует линкер, а затем вариабельный домен тяжелой цепи. То есть компоненты могут быть расположены в виде NH_2-V_L-линкер-V_H-COOH или NH_2-V_H-линкер-V_L-COOH.

В некоторых вариантах осуществления описанная в настоящем документе экспрессионная кассета содержится в вирусном векторе с ограничением размера полинуклеотида(ов). В некоторых вариантах осуществления экспрессионная кассета содержится в векторе на основе AAV-вируса. Из-за ограничений по размеру определенных векторов, вектор может содержать или не содержать кодирующие последовательности для полных тяжелых и легких цепей терапевтического антитела, но может содержать кодирующие последовательности тяжелых и легких цепей антигенсвязывающих фрагментов, таких как тяжелые и легкие цепи фрагмента Fab или $F(ab')_2$ или scFv. В частности, описанные в настоящем документе AAV-векторы могут вмещать трансген размером приблизительно 4,7 т.н. Для таких конструкций, таких как конструкция, показанная на фиг. 1, которая содержит промотор CB7, интрон β-актина курицы, сигнал полиА β-глобина кролика и инвертированные концевые повторы (ITR), кодируемое терапевтическое антитело может содержать приблизительно 752 аминокислоты. Замена меньших элементов экспрессии обеспечила бы возможность экспрессии более крупных белковых продуктов, таких как полноразмерные терапевтические антитела.

5.1.6 Нетранслируемые области

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат одну или более нетранслируемых областей (UTR), *например*, 3’ и/или 5’ UTR. В некоторых вариантах осуществления нетранслируемые области (UTR) оптимизированы для желаемого уровня экспрессии белка. В некоторых вариантах осуществления UTR оптимизированы для периода полужизни мРНК трансгена. В некоторых вариантах осуществления UTR оптимизированы для стабильности мРНК трансгена. В некоторых вариантах осуществления UTR оптимизированы для вторичной структуры мРНК трансгена.

5.1.7 Инвертированные концевые повторы

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат одну или более последовательностей с инвертированными концевыми повторами (ITR). Последовательности ITR могут быть использованы для упаковки рекомбинантной генной кассеты экспрессии в вирион вирусного вектора. В некоторых вариантах осуществления ITR происходит от AAV, *например*, AAV8 или AAV2 (*см., например*, Yan et al., 2005, J. Virol., 79 (l):364-379; патент США 7282199 B2, патент США 7790449 B2, патент США 8318480 B2, патент США 8962332 B2 и Международную заявку на патент PCT/EP2014/076466, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки). В предпочтительных вариантах осуществления нуклеотидные последовательности, кодирующие ITR, могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 418 (5'-ITR) или 420 (3'-ITR). В некоторых вариантах осуществления могут быть использованы модифицированные ITR, используемые для получения самокомплементарного вектора, *например*, scAAV (*см., например*, публикации Wu, 2007, Human Gene Therapy, 18(2):171-82, McCarty et al, 2001, Gene Therapy, Vol 8, Number 16, Pages 1248-1254; и патенты США №№ 6596535; 7125717; и 7456683, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). В предпочтительных вариантах осуществления нуклеотидные последовательности, кодирующие модифицированные ITR, могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 419 (5'-ITR) или 421 (3'-ITR).

5.1.8 Трансгены

Трансгены кодируют HuPTM mAb либо в виде полноразмерного антитела, либо его антигенсвязывающего фрагмента, например, фрагмента Fab (HuGlyFab), или $F(ab')_2$, или scFv на основе терапевтического антитела, раскрытого в настоящем документе. В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент, в частности, HuGlyFab, сконструированы таким образом, чтобы содержать дополнительные сайты гликозилирования в Fab-домене (*например, см*. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для описания сайтов гипергликозилирования на Fab-домене). На фиг. 20 представлены выравнивания тяжелых и легких цепей Fab терапевтических антител, раскрытых в настоящем документе, и выделены зеленым цветом остатки, которые могут быть заменены аспарагином или, в некоторых случаях, серином, что приводит к гипергликозилированию. Кроме того, для HuPTM mAb, содержащего Fc-домен, Fc-

домен может быть сконструирован для изменения сайта гликозилирования в N297, чтобы предотвратить гликозилирование в этом сайте (например, замена в N297 на другую аминокислоту и/или замена в T297 на остаток, который не является T или S, чтобы выключить сайт гликозилирования). Такие домены Fc являются «агликозилированными».

В некоторых вариантах осуществления трансгены кодируют либо полноразмерное антитело, либо его антигенсвязывающий фрагмент с кодирующей последовательностью тяжелой и легкой цепей. Такие трансгены, кодирующие полноразмерное антитело, содержат Fab-фрагмент и Fc-область. Область Fc более подробно обсуждается в Разделе 5.1.9. Иллюстративные последовательности представлены на фиг. 23 и в таблице 7.

В некоторых вариантах осуществления преимущественно используют антигенсвязывающие фрагменты. На фигурах 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F представлены аминокислотные последовательности тяжелых и легких цепей Fab-фрагментов терапевтических антител (см. также таблицу 5, в которой представлены аминокислотные последовательности тяжелых и легких цепей Fab терапевтических антител). В некоторых вариантах осуществления трансген для экспрессии полноразмерного антитела может содержать нуклеотидные последовательности, кодирующие последовательности тяжелой и легкой цепей, с использованием нуклеотидных последовательностей, которые кодируют Fab-часть тяжелой цепи, включая последовательность шарнирной области, плюс полипептид Fc тяжелой цепи для соответствующего изотипа, как описано далее в настоящем документе, и легкой цепи. Нуклеотидные последовательности, кодирующие части Fab-фрагмента тяжелой и легкой цепей терапевтических антител, раскрытых в настоящем документе, представлены в таблице 6. Некоторые из этих нуклеотидных последовательностей кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Последовательности для трансгенов, кодирующих ланаделумаб и адалимумаб, представлены в таблицах 8 и 17, соответственно. Трансген может кодировать Fab-фрагмент с использованием нуклеотидных последовательностей, кодирующих последовательности, представленные на фигурах 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F, но не включая часть шарнирной области на тяжелой цепи, которая образует межцепочечные дисульфидные связи (*например*, часть, содержащая последовательность CPPCPA (SEQ ID NO: 232)).

Последовательности Fab-домена тяжелой цепи, которые не содержат последовательность CPPCP (SEQ ID NO: 233) шарнирной области на С-конце, не будут образовывать внутрицепочечные дисульфидные связи и, таким образом, будут образовывать Fab-фрагменты с соответствующими последовательностями Fab-домена легкой цепи, тогда как эти последовательности Fab-домена тяжелой цепи с частью шарнирной области на С-конце, содержащей последовательность CPPCP (SEQ ID NO: 233), будут образовывать внутрицепочечные дисульфидные связи и, таким образом, будут образовывать фрагменты Fab_2. Например, в некоторых вариантах осуществления трансген может кодировать scFv, содержащий вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, соединенные гибким линкером (где вариабельный домен тяжелой цепи может находиться либо на N-терминальном конце, либо на С-терминальном конце scFv) и, необязательно, может дополнительно содержать полипептид Fc (*например*, IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4) на С-терминальном конце тяжелой цепи. Альтернативно, в других вариантах осуществления трансген может кодировать фрагменты $F(ab')_2$, содержащие нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь, и последовательность тяжелой цепи, которая включает по меньшей мере последовательность CPPCA (SEQ ID NO: 430) шарнирной области, как показано на фигурах 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F, на которых изображены различные участки шарнирной области, которые могут быть включены в С-конец последовательности тяжелой цепи. Существующие ранее антитела к шарниру антитела (АНА) могут вызывать иммуногенность и снижать эффективность. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления для изотипа IgG1 С-конец заканчивается D221 или заканчивается мутацией T225L или L242, что может уменьшить связывание с АНА. (См., например, Brezski, 2008, J Immunol 181: 3183-92 и Kim, 2016, 8: 1536-1547). Для IgG2 риск АНА ниже, поскольку шарнирная область IgG2 не столь восприимчива к ферментативному расщеплению, необходимому для получения эндогенной АНА. (*См., например*, Brezski, 201 1, MAbs 3: 558-567).

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: a) последовательность конститутивного или индуцируемого (например, индуцируемого гипоксией или индуцируемого рифамицином) промотора или тканеспецифическая промоторная/регуляторная область, например, одна из регуляторных областей, представленных в таблице 1, и b) последовательность, кодирующая трансген

(*например*, HuGlyFab). В некоторых вариантах осуществления кодирующая трансген последовательность содержит несколько ORF, разделенных элементами IRES. В некоторых вариантах осуществления ORF кодируют домены тяжелой и легкой цепей HuGlyFab. В некоторых вариантах осуществления кодирующая трансген последовательность содержит множество субъединиц в одной ORF, разделенных последовательностями F/F2A или последовательностями F/T2A. В некоторых вариантах осуществления содержащая трансген последовательность кодирует домены тяжелой и легкой цепей HuGlyFab, разделенные последовательностью F/F2A или последовательностью F/T2A. В некоторых вариантах осуществления содержащая трансген последовательность кодирует вариабельные домены тяжелой и легкой цепей HuGlyFab, разделенные гибким пептидным линкером (в виде scFv). В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: a) последовательность конститутивного или индуцируемого промотора или тканеспецифического промотора, такого как один из промоторов или регуляторных областей, представленных в таблице 1, и b) последовательность, кодирующая трансген (например, HuGlyFab), причем трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, легкую цепь и Fab-часть тяжелой цепи, разделенные элементом IRES. В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: a) последовательность конститутивного или индуцируемого гипоксией промотора или регуляторный элемент, представленный в таблице 1, и b) последовательность, кодирующая трансген, содержащий сигнальный пептид, последовательность легкой цепи и последовательность тяжелой цепи, разделенные последовательностью расщепляемого F/F2A (SEQ ID NO: 231) или последовательностью F/T2A (SEQ ID NO: 429), или гибким пептидным линкером.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: a) первая последовательность ITR, b) первая последовательность линкера, c) последовательность конститутивного или индуцируемого промотора, или тканеспецифического промотора, или регуляторная область, d) вторая последовательность линкера, e) последовательность интрона, f) третья последовательность линкера, g) первая последовательность UTR, h) последовательность, кодирующая трансген (*например*, HuGlyFab), i) вторая последовательность UTR, j) четвертая последовательность

линкера, k) последовательность поли-A, 1) пятая последовательность линкера и m) вторая последовательность ITR.

В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: a) первая последовательность ITR, b) первая последовательность линкера, c) последовательность конститутивного или индуцируемого промотора, или тканеспецифического промотора или регуляторная область, d) вторая последовательность линкера, e) последовательность интрона, f) третья последовательность линкера, g) первая последовательность UTR, h) последовательность, кодирующая трансген (*например*, HuGlyFab), i) вторая последовательность UTR, j) четвертая последовательность линкера, k) последовательность поли-A, 1) пятая последовательность линкера и m) вторая последовательность ITR, причем трансген содержит сигнал, и причем трансген кодирует последовательность легкой цепи и тяжелой цепи, разделенные последовательностью расщепляемого F/2A.

5.1.9 Модификации Fc-области

В некоторых вариантах осуществления трансгены кодируют полноразмерные или по существу полноразмерные тяжелые и легкие цепи, которые связываются с образованием полноразмерного или интактного антитела. («По существу интактное» или «по существу полноразмерное» относится к mAb, имеющему последовательность тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности полноразмерной тяжелой цепи mAb, и последовательность легкой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична к аминокислотной последовательности полноразмерной легкой цепи mAb). Соответственно, трансгены содержат нуклеотидные последовательности, которые кодируют, например, легкую и тяжелую цепи Fab-фрагментов, показанные на фиг. 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F, включая шарнирную область тяжелой цепи и C-конец тяжелой цепи Fab-фрагмента, пептида Fc-домена. В таблице 7 представлены аминокислотные последовательности полипептидов Fc-областей для некоторых терапевтических антител, описанных в настоящем документе. Альтернативно, может быть использован Fc-домен IgG1, IgG2 или IgG4, последовательности которого представлены на фиг. 23. Как подробно описано, трансген может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид Fc-области для терапевтического антитела, связанную с нуклеотидной последовательностью, кодирующей Fab-фрагмент тяжелой цепи на C-конце шарнирной

области, как показано в Таблице 6 (с аминокислотными последовательностями, представленными на фигурах 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A- 16I, 17, 18, 19 и 29A-29F и в таблице 6).

Термин «Fc-область» относится к димеру, состоящему из двух «полипептидов Fc» (или «Fc-доменов»), при этом каждый «полипептид Fc» содержит константную область тяжелой цепи антитела, за исключением первого иммуноглобулинового домена константной области. В некоторых вариантах осуществления «Fc-область» включает два полипептида Fc, соединенных посредством одной или нескольких дисульфидных связей, химических линкеров или пептидных линкеров. «Полипептид Fc» относится по меньшей мере к двум последним иммуноглобулиновым доменам константной области IgA, IgD и IgG, или последним трем иммуноглобулиновым доменам константной области IgE и IgM, а также может включать часть или весь N-конец гибкого шарнирного участка к этим доменам. Например, для IgG «полипептид Fc» содержит иммуноглобулиновые домены Cgamma2 (Cγ2, часто называемый доменом CH2) и Cgamma3 (Cγ3, также называемый доменом CH3) и может включать нижнюю часть шарнирного домена между Cgammal (Cγl, также называемый доменом CH1) и доменом CH2. Хотя границы полипептида Fc могут варьироваться, полипептид Fc тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяется как содержащий остатки, начинающиеся с T223 или C226, или P230, до его карбоксильного конца, где нумерация соответствует индексу EC, как описано в Kabat et al. (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Services, Springfield, Va.). Например, для IgA полипептид Fc содержит иммуноглобулиновые домены Calpha2 (Cα2) и Calpha3 (Cα3) и может включать нижнюю часть шарнира между Calpha1 (Cαl) и Cα2.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc представляет собой полипептид Fc терапевтического антитела (см. таблицу 7) или полипептид Fc, соответствующий изотипу терапевтического антитела (изотип указан на фигурах 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F). В других вариантах осуществления полипептид Fc представляет собой полипептид Fc IgG. Полипептид Fc может происходить из изотипа IgG1, IgG2 или IgG4 (см. фиг. 23 для выравнивания последовательностей Fc-доменов IgG1, IgG2 и IgG4, пронумерованных в соответствии с нумерацией EC) или может представлять собой Fc-домен IgG3, в зависимости, например, от желаемой эффекторной активности терапевтического антитела. В некоторых вариантах осуществления сконструированная константная область тяжелой цепи (CH), которая

включает Fc-домен, является химерной. Таким образом, химерная область CH объединяет домены CH, происходящие из более чем одного изотипа и/или подтипа иммуноглобулина. Например, химерная (или гибридная) область CH содержит часть или всю Fc-область из IgG, IgA и/или IgM. В других примерах химерная область CH содержит часть или весь домен CH2, происходящий из молекулы IgG1 человека, IgG2 человека или IgG4 человека, в сочетании с частью или всем доменом CH3, происходящим из молекулы IgG1 человека, IgG2 человека или IgG4 человека. В других вариантах осуществления химерная область CH содержит химерную шарнирную область.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные векторы кодируют терапевтические антитела, содержащие сконструированные (мутантные) Fc-области, *например*, сконструированные Fc-области константной области IgG. Модификации константной области антитела, Fc-области или Fc-фрагмента антитела IgG могут изменять одну или несколько эффекторных функций, таких как связывание с Fc-рецептором или связывание с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) и, следовательно, период полужизни, активность CDC, активность ADCC и/или активность ADPC по сравнению с соответствующим антителом, имеющим константную область IgG дикого типа или константную область тяжелой цепи IgG без указанной модификации(й). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления может быть сконструировано антитело для обеспечения константной области антитела, Fc-области или Fc-фрагмента антитела IgG, которое демонстрирует измененное связывание (по сравнению с эталонной константной областью или константной областью дикого типа без указанной модификации(й)) с одним или несколькими Fc-рецепторами (например, рецептор FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIIIA, FcγRIIIB, FcγRIV или FcRn). В некоторых вариантах осуществления обеспечено антитело, константная область антитела, Fc-область или Fc-фрагмент антитела IgG, которое проявляет одну или несколько измененных эффекторных функций, таких как активность CDC, ADCC или ADCP, по сравнению с соответствующим антителом, имеющим константную область IgG дикого типа или константную область IgG без указанной модификации(й).

«Эффекторная функция» относится к биохимическому явлению, которое происходит в результате взаимодействия Fc-области антитела с Fc-рецептором или лигандом. Эффекторные функции включают опосредованные FcγR эффекторные функции, такие как ADCC и ADCP, и опосредованные комплементом эффекторные функции, такие как CDC.

«Эффекторная клетка» относится к клетке иммунной системы, которая экспрессирует один или несколько Fc-рецепторов и опосредует одну или несколько эффекторных функций. Эффекторные клетки включают, но без ограничения, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, эозинофилы, тучные клетки, тромбоциты, B-клетки, большие гранулярные лимфоциты, клетки Лангерганса, естественные клетки-киллеры (NK) и T-клетки, которые могут происходить из любого организма, включая, но без ограничения, людей, мышей, крыс, кроликов и обезьян.

Термин «ADCC» или «антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность» относится к опосредованной клетками реакции, в которой неспецифические цитотоксические эффекторные (иммунные) клетки, экспрессирующие FcγR, распознают антитело, связанное на клетке-мишени, и впоследствии вызывают лизис клетки-мишени.

Термин «ADCP» или «антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз» относится к опосредованной клетками реакции, в которой неспецифические цитотоксические эффекторные (иммунные) клетки, экспрессирующие FcγR, распознают антитело, связанное на клетке-мишени, и впоследствии вызывают фагоцитоз клетки-мишени.

Термин «CDC» или «комплемент-зависимая цитотоксичность» относится к реакции, в которой один или несколько компонентов белка комплемента распознают связанное антитело на клетке-мишени и впоследствии вызывают лизис этой клетки-мишени.

В некоторых вариантах осуществления модификации Fc-домена включают, но без ограничения, следующие модификации и их комбинации со ссылкой на нумерацию ЕС константной области IgG (см. фиг. 23): 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 248, 249, 250, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 301, 303, 305, 307, 308, 309, 311, 312, 315, 318, 320, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 428, 430, 433, 434, 435, 437, 438 и 439.

В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит аминокислотное добавление, делецию или замену одного или более аминокислотных остатков 251-256, 285-290, 308-314, 385-389 и 428-436 IgG. В некоторых вариантах осуществления 251-256, 285-290, 308-314, 385-389 и 428-436 (нумерация ЕС по Kabat; см. фиг. 23) замещены гистидином, аргинином, лизином, аспарагиновой кислотой, глутаминовой

кислотой, серином, треонином, аспарагином или глутамином. В некоторых вариантах осуществления остаток, не являющийся гистидином, заменен на остаток гистидина. В некоторых вариантах осуществления остаток гистидина заменен остатком, не являющимся гистидином.

Увеличение связывания FcRn антителом, имеющим сконструированный Fc, приводит к предпочтительному связыванию антитела с повышенной аффинностью с FcRn по сравнению с антителом, имеющим Fc дикого типа, и, таким образом, приводит к чистому увеличенной рециркуляции антител с повышенной аффинностью связывания с FcRn, что приводит к дальнейшему увеличению периода полужизни антител. Подход, состоящий в увеличенной рециркуляции, обеспечивает высокоэффективное нацеливание и клиренс антигенов, включая, например, циркулирующие антигены с «высоким титром», такие как C5, цитокины или бактериальные, или вирусные антигены.

В некоторых вариантах осуществления обеспечены модифицированная константная область, Fc-область или Fc-фрагмент антитела IgG с увеличенным связыванием с FcRn в сыворотке по сравнению с Fc-областью дикого типа (без сконструированных модификаций). В некоторых случаях антитела, например, антитела IgG, сконструированы для связывания с FcRn при нейтральном pH, *например*, при pH 7,4 или выше, для усиления зависимости от pH связывания с FcRn по сравнению с Fc-областью дикого типа (без сконструированных модификаций). В некоторых случаях антитела, например, антитела IgG сконструированы таким образом, чтобы проявлять повышенное связывание (например, увеличенную аффинность или K_D) с FcRn в эндосомах (*например*, при кислом pH, *например*, при pH 6,0 или ниже) относительно связывания IgG дикого типа и/или эталонного антитела с FcRn при кислом pH, а также по сравнению со связыванием с FcRn в сыворотке (*например*, при нейтральном pH, например, при pH 7,4 или выше). Обеспечены антитела с константной областью сконструированного антитела, Fc-областью или Fc-фрагментом антитела IgG, которые демонстрируют улучшенный период полужизни в сыворотке или резидентной ткани по сравнению с соответствующим антителом, имеющим константную область IgG дикого типа или константую область IgG без указанной модификации(й)

Неограничивающие примеры таких модификаций Fc включают, *например*, модификацию в положении 250 (например, E или Q); 250 и 428 (например, L или F); 252 (например, LN/Y/W или T), 254 (например, S или T) и 256 (например, S/R/Q/E/D или T); или модификацию в положении 428 и/или 433 (например, H/L/R/S/P/Q или K)

и/или 434 (например, H/F или Y); или модификацию в положении 250 и/или 428; или модификацию в положении 307 или 308 (например, 308F, V308F) и 434. В одном варианте осуществления модификация содержит модификацию 428L (например, M428L) и 434S (например, N434S); модификацию 428L, 2591 (например, V2591) и 308F (например, Y308F); модификацию 433K (например, H433K) и 434 (например, 434Y); модификацию 252, 254 и 256 (например, 252Y, 254T, 256E); модификацию 250Q и 428L (например, T250Q и M428L); и модификацию 307 и/или 308 (например, 308F или 308P) (нумерация EC; см. фиг. 23).

В некоторых вариантах осуществления Fc-область может быть мутантной формой, такой как hlgGl Fc, включая мутации M252, например, M252Y, и S254T и T256E («мутация YTE») проявляют повышенную аффинность к FcRn человека (Dall'Acqua, et al., 2002, J Immunol 169:5171-5180) и последующую кристаллическую структуру этого мутантного антитела, связанного с hFcRn, что приводит к созданию двух солевых мостика (Oganesyan, et al. 2014, JBC 289(11): 7812-7824). Антитела, содержащие мутацию YTE, вводили обезьянам и людям, и имеют значительно улучшенные фармакокинетические свойства (Haraya, et al., 2019, Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 34(1):25-41).

В некоторых вариантах осуществления модификации одного или нескольких аминокислотных остатков в Fc-области могут уменьшать период полужизни в системном кровотоке (сыворотке), однако приводят к улучшенному удержанию в тканях (например, в глазу) за счет отключения связывания FcRn (например, H435A, EC нумерация Kabat) (Ding et al., 2017, MAbs 9:269-284; и Kim, 1999, Eur J Immunol 29: 2819).

В некоторых вариантах осуществления Fc-домен может быть сконструирован для активации всех, некоторых или ни одной из нормальных эффекторных функций Fc, не влияя на желаемые фармакокинетические свойства полипептида Fc (например, антитела). Полипептиды Fc, имеющие измененную эффекторную функцию, могут быть желательными, поскольку они могут снижать нежелательные побочные эффекты, такие как активация эффекторных клеток терапевтическим белком.

Способы изменения или даже устранения эффекторной функции могут включать мутацию(и) или модификацию(и) аминокислотных остатков шарнирной области антитела. Например, мутанты Fc-домена IgG, содержащие замены 234A, 237A и 238S, в соответствии с системой нумерации EU, демонстрируют сниженный комплемент-зависимый лизис и/или опосредованное клетками разрушение. Делеции

и/или замены в нижнем шарнире, например, где положения 233-236 в пределах шарнирного домена (нумерация ЕС) удалены или модифицированы на глицин, как было показано в данной области, значительно снижают активность ADCC и CDC.

В конкретных вариантах осуществления Fc-домен представляет собой агликозилированный Fc-домен, который имеет замену по остатку 297 или 299 для изменения сайта гликозилирования по 297, так что Fc-домен не гликозилируется. Такие агликозилированные Fc-домены могут обладать пониженной ADCC или другой эффекторной активностью.

Неограничивающие примеры белков, содержащих мутантные и/или химерные области CH с измененными эффекторными функциями, и способы конструирования и тестирования мутантных антител описаны в данной области, например, K.L. Amour, et al., Eur. J. Immunol. 1999, 29:2613-2624; Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2006, 103: 4005; публикация заявки на патент США 20070135620 A1, опубликованная 14 июня 2007 г.; публикация заявки на патент США 20080154025 A1, опубликованная 26 июня 2008 г.; публикация заявки на патент США 20100234572 A1, опубликованная 16 сентября 2010 г.; публикация заявки на патент США 20120225058 A1, опубликованная 6 сентября 2012 г.; публикация заявки на патент США 20150337053 A1, опубликованная 26 ноября 2015 г.; международная публикация WO20/16161010A2, опубликованная 6 октября 2016 г.; патент США 9359437, выданный 7 июня 2016 г.; и патент США 10053517, выданный 21 августа 2018 г., все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

С-концевые лизины (-K), консервативные в генах тяжелых цепей всех подклассов человеческого IgG, обычно отсутствуют в антителах, циркулирующих в сыворотке - С-концевые лизины отщепляются в кровотоке, что приводит к гетерогенной популяции циркулирующих IgG. (van den Bremer et al., 2015, mAbs 7: 672-680). В векторных конструкциях для полноразмерных mAb, ДНК, кодирующая С-концевой лизин (-K) или глицин-лизин (-GK) Fc-конца, может быть удалена для получения более гомогенного продукта антитела *in situ*. (См. работу Hu et al., 2017 Biotechnol. Prog. 33: 786-794, которая включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме).

5.1.10 Изготовление и тестирование векторов

Вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, могут быть изготовлены с использованием клеток-хозяев. Вирусные векторы, обеспеченные в настоящем документе, могут быть изготовлены с использованием клеток-хозяев

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

Клетки-хозяева стабильно трансформируются с помощью последовательностей, кодирующих трансген и ассоциированные элементы (*например*, векторный геном), и средств продуцирования вирусов в клетках-хозяевах, например, гены rep (репликация) и cap (капсид) (*например*, гены rep и cap AAV). Для получения информации о способе получения рекомбинантных векторов AAV с капсидами AAV8 см. Раздел IV подробного описания патента США 7282199 B2, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Титры копий генома указанных векторов можно определить, например, с помощью анализа TAQMAN®. Вирионы могут быть выделены, например, путем осаждения $CsCl_2$.

Альтернативно, для получения AAV-векторов могут быть использованы бакуловирусные системы экспрессии в клетках насекомых. Для обзора см. публикацию Aponte-Ubillus et al., 2018, Appl. Microbiol. Biotechnol. 102:1045-1054, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для технологий изготовления.

Анализы in vitro, *например*, анализы клеточных культур, могут быть использованы для измерения экспрессии трансгена из вектора, описанного в настоящем документе, что указывает, *например*, на эффективность вектора. Например, клеточная линия PER.C6® Cell Line (Lonza), полученная из эмбриональных клеток сетчатки человека или клеток пигментного эпителия сетчатки, *например*, клеточная линия пигментного эпителия сетчатки hTERT RPE-1 (доступная от ATCC®), может быть использована для оценки экспрессии трансгена. После экспрессии могут быть определены характеристики экспрессированного продукта, включая определение характера гликозилирования и сульфатирования тирозина, связанного с HuGlyFab. Паттерны гликозилирования и способы его определения обсуждаются в разделе 5.2.1, а паттерны сульфатирования тирозина и способы его определения обсуждаются в разделе 5.2.2. Кроме того, преимущества, возникающие в результате гликозилирования/сульфатирования экспрессируемого клетками HuGlyFab, могут быть определены с использованием анализов, известных в данной области, *например*, способов, описанных в разделах 5.2.1 и 5.2.2.

5.1.10 Композиции

Фармацевтические композиции, подходящие для введения субъектам-людям, содержат суспензию рекомбинантного вектора в буфере для составления, содержащем физиологически совместимый водный буфер, поверхностно-активное вещество и необязательные вспомогательные вещества. Такой буфер для составления может содержать один или более из полисахарида, поверхностно-активного вещества, полимера или масла. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит rAAV в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем для введения субъекту. В одном варианте осуществления термин «фармацевтически приемлемый» означает одобренный регулирующим органом федерального правительства или правительства штата, или указанные в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения у животных и, более конкретно, у людей. Термин «носитель» относится к разбавителю, адъюванту (*например*, полному и неполному адъюванту Фрейнда), вспомогательному веществу или несущей среде, с которой вводится агент. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, включая, *например*, арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т.п. Вода является общепринятым носителем в случае внутривенного введения фармацевтической композиции. Солевые растворы, и водные растворы декстрозы и глицерина также могут быть использованы в качестве жидких носителей, особенно для растворов для инъекций. Подходящие фармацевтические вспомогательные вещества включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен, гликоль, воду, этанол и т.п. Дополнительные примеры фармацевтически приемлемых носителей, вспомогательных веществ и стабилизаторов включают, но без ограничения, буферы, такие как фосфатный, цитратный, и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярные полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин и желатин; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионогенные поверхностно-активные вещества,

такие как TWEEN™, полиэтиленгликоль (PEG) и PLURONICS™, известные в данной области. Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может также включать смазывающее вещество, смачивающий агент, подсластитель, ароматизатор, эмульгатор, суспендирующий агент и консервант в дополнение к вышеуказанным ингредиентам. Эти композиции могут принимать форму растворов, суспензий, эмульсии, таблеток, пилюль, капсул, порошков, составов с замедленным высвобождением и т.п.

5.2 N-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ, СУЛЬФАТИРОВАНИЕ ТИРОЗИНА И О-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ

Каждая из раскрытых в настоящем документе аминокислотных последовательностей (первичная последовательность) HuGlyFabs или HuPTM Fabs, HuPTMmAbs и HuPTM scFvs содержит по меньшей мере один сайт, в котором происходит N-гликозилирование или сульфатирование тирозина (см. фигуры 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F для положений гликозилирования и/или сульфатирования в аминокислотных последовательностях Fab-фрагментов терапевтических антител). Посттрансляционная модификация также происходит в Fc-домене полноразмерных антител, в частности, по остатку N297 (нумерация по EU, см. фиг. 23).

Альтернативно, мутации могут быть введены в Fc-домен для изменения сайта гликозилирования по остатку N297 (нумерация по EC, см. фиг. 23), в частности, путем замены аспарагина в положении 297 или треонина в положении 299 на другую аминокислоту для удаления сайта гликозилирования, что в результате приводит к получению агликозилированного Fc-домена.

5.2.1 N-гликозилирование

Сайты обратного гликозилирования

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

Неконсенсусные сайты гликозилирования

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

Сконструированные сайты N-гликозилирования

В некоторых вариантах осуществления нуклеиновую кислоту, кодирующую HuPTM mAb, HuGly Fab или HuTPM scFv, модифицируют так, чтобы она включала 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более сайтов N-гликозилирования (включая каноническую консенсусную последовательность N-гликозилирования, обратный сайт N-гликозилирования и неконсенсусные сайты N-гликозилирования), которые обычно ассоциируются с HuPTM mAb, HuGly Fab или HuPTM scFv (*например*, относительно количества сайтов N-гликозилирования, связанных с HuPTM mAb, HuGly Fab или HuPTM scFv в ее немодифицированном состоянии). В конкретных вариантах осуществления введение сайтов гликозилирования осуществляется путем вставки сайтов N-гликозилирования (включая каноническую консенсусную последовательность N-гликозилирования, обратный сайт N-гликозилирования и неконсенсусные сайты N-гликозилирования) в любой части первичной структуры антигенсвязывающего фрагмента, при условии, что указанное введение не влияет на связывание антитела или антигенсвязывающего фрагмента с его антигеном. Введение сайтов гликозилирования может быть осуществлено, *например*, путем добавления

новых аминокислот к первичной структуре антигенсвязывающего фрагмента или антитела, из которого получен антигенсвязывающий фрагмент (*например*, сайты гликозилирования добавляются полностью или частично) или путем мутации существующих аминокислот в антигенсвязывающем фрагменте или антителе, из которого получен антигенсвязывающий фрагмент, для создания сайтов N-гликозилирования (*например*, аминокислоты не добавляются к антигенсвязывающему фрагменту/антителу, но выбранные аминокислоты антигенсвязывающего фрагмента/антитела мутируют так, чтобы образовать сайты N-гликозилирования). Специалистам в данной области должно быть понятно, что аминокислотная последовательность белка может быть легко модифицирована с использованием подходов, известных в данной области, *например*, рекомбинантных подходов, которые предусматривают модификацию последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей белок.

В конкретном варианте осуществления HuGlyMab или антигенсвязывающий фрагмент модифицирован таким образом, что при экспрессии в клетках млекопитающих, таких как клетки сетчатки, ЦНС, печени или мышц, он может быть гипергликозилирован. См. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8:99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

N-гликозилирование HuPTM mAb и HuPTM антигенсвязывающих фрагментов

В отличие от низкомолекулярных лекарственных средств, биологические препараты, как правило, содержат смесь многих вариантов с различными модификациями или формами, которые могут характеризоваться различной активностью, фармакокинетикой и/или профилем безопасности. Необязательно, чтобы каждая молекула, полученная методом генной или белковой терапии, была полностью гликозилированной и сульфатированной. Скорее, популяция продуцируемых гликопротеинов должна иметь достаточное гликозилирование (включая 2,6-сиалилирование) и сульфатирование, чтобы продемонстрировать эффективность. Цель лечения генной терапией, обеспеченного в настоящем документе, может заключаться, например, в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование заболевания или патологического состояния, или уменьшить тяжесть одного или более симптомов, связанных с заболеванием или патологическим состоянием.

При экспрессии HuPTM mAb, HuGly Fab или HuPTM scFv в клетке человека сайты N-гликозилирования антигенсвязывающего фрагмента могут быть

гликозилированы различными гликанами. N-гликаны антигенсвязывающих фрагментов и Fc-домена были охарактеризованы в данной области. Например, в публикации Bondt et al., 2014, Mol. & Cell. Proteomics 13.11:3029-3039 (полностью включена в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов; см. также фиг. 22) охарактеризованы гликаны, ассоциированные с Fab, и продемонстрировано, что части Fab и Fc антител содержат отличающиеся паттерны гликозилирования, причем гликаны Fab характеризуются высоким галактозилированием, сиалилированием и делением пополам (*например*, с делением пополам GlcNAc), но низким фукозилированием по отношению к Fc гликанам. Подобно Bondt, авторами публикации Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207 (полностью включенной в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов) обнаружено, что большинство гликанов Fab сиалилированы. Однако в Fab антитела, исследованного Huang (который был продуцирован в фоне мышиных клеток), идентифицированными сиаловыми остатками были N-гликолилнейраминовая кислота («Neu5Gc» или «NeuGc») (что не является природным для человека) вместо N-ацетилнейраминовой кислоты («Neu5Ac», преобладающая сиаловая кислота человека). Кроме того, в публикации Song et al., 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666 (полностью включенной в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов) описана библиотека N-гликанов, связанных с коммерчески доступными антителами.

Гликозилирование Fc-домена было охарактеризовано и представляет собой единственный N-связанный гликан по аспарагину 297 (нумерация EC; см. фиг. 23). Гликан играет интегральную структурную и функциональную роль, влияя на эффекторную функцию антитела, такую как связывание с Fc-рецептором (см., например, Jennewein and Alter, 2017, Trends In Immunology 38:358, где обсуждается роль гликозилирования Fc в функции антитела). Удаление гликана Fc-области почти полностью устраняет эффекторную функцию (Jennewien and Alter, 362). Было показано, что состав гликана Fc влияет на эффекторную функцию, например, было показано, что гипергалактозилирование и снижение фукозилирования увеличивает активность ADCC, в то время как сиалилирование коррелирует с противовоспалительными эффектами (*Id.*, 364). Состояния заболевания, генетика и даже диета могут влиять на состав гликана Fc *in vivo*. Для рекомбинантно экспрессируемых антител, состав гликана может значительно различаться в зависимости от типа клетки-хозяина, используемой для рекомбинантной экспрессии, и доступны стратегии для контроля и

модификации состава гликана в терапевтических антителах, рекомбинантно экспрессируемых в культуре клеток, таких как CHO, для изменения эффекторной функции (см., например, US 2014/0193404, Hansen et al.). Таким образом, HuPTM mAb, обеспеченные в настоящем документе, могут выгодным образом содержать гликан в положении N297, который больше похож на состав нативного гликана человека, чем на антитела, экспрессируемые в нечеловеческих клетках-хозяевах.

Важно, что когда HuPTM mAb, HuGly Fab или HuPTM scFv экспрессируются в клетках человека, необходимость в продукции *in vitro* в прокариотических клетках-хозяевах (*например*, *E. coli*) или эукариотических клетках-хозяевах (*например*, клетках CHO или клетках NS0) исключается. Вместо этого, в результате способов, описанных в настоящем документе, сайты N-гликозилирования HuPTM mAb, HuGlyFab или HuPTM scFv выгодным образом «декорируют» гликанами, подходящими и применимыми для лечения людей. Такое преимущество недостижимо, когда клетки CHO, клетки NS0 или *E. coli* используют в продукции антитела/антигенсвязывающего фрагмента, потому что, *например*, клетки CHO (1) не экспрессируют 2,6-сиалилтрансферазу и, следовательно, не могут добавлять 2,6-сиаловую кислоту во время N-гликозилирования; (2) могут добавлять Neu5Gc в качестве сиаловой кислоты вместо Neu5Ac; и (3) могут также продуцировать иммуногенный гликан, антиген α-Gal, который реагирует с антителами против α-Gal, присутствующими у большинства людей, которые при высоких концентрациях могут вызывать анафилаксию; и потому что (4) *E. coli* в природе не содержит компонентов, необходимых для N-гликозилирования.

Анализы для определения паттерна гликозилирования антител, включая антигенсвязывающие фрагменты, известны в данной области. Например, для анализа гликанов можно использовать гидразинолиз. Во-первых, полисахариды высвобождаются из связанного с ними белка путем инкубации с гидразином (можно использовать набор Ludger Liberate Hydrazinolysis Glycan Release Kit, Oxfordshire, UK). Нуклеофильный гидразин атакует гликозидную связь между полисахаридом и белком-носителем и позволяет высвобождать связанные гликаны. N-ацетильные группы теряются во время этой обработки и должны быть восстановлены путем повторного N-ацетилирования. Гликаны также могут высвобождаться с использованием ферментов, таких как гликозидазы или эндогликозидазы, такие как PNGase F и Endo H, которые расщепляются чисто и с меньшим количеством побочных реакций, чем гидразины. Свободные гликаны могут быть очищены на угольных колонках и затем помечены на восстанавливающем конце фторофор-2-аминобензамидом. Меченые полисахариды

могут быть разделены на колонке GlycoSep-N (GL Sciences) в соответствии с протоколом HPLC публикации Royle et al. Anal Biochem 2002, 304(1):70-90. Полученная флуоресцентная хроматограмма показывает длину полисахарида и количество повторяющихся звеньев. Информация о структуре может быть получена путем сбора отдельных пиков и последующего выполнения анализа MS/MS. Таким образом, может быть подтвержден моносахаридный состав и последовательность повторяющихся звеньев, и дополнительно может быть идентифицирована гомогенность полисахаридного состава. Конкретные пики низкой или высокой молекулярной массы могут быть подвергнуты анализу с помощью MALDI-MS/MS, и результат использован для подтверждения последовательности гликана. Каждый пик на хроматограмме соответствует полимеру, *например*, гликану, состоящему из определенного числа повторяющихся звеньев и фрагментов, *например*, их остатков сахара. Таким образом, хроматограмма позволяет измерять распределение полимера, *например*, гликана, по длине. Время элюирования является показателем длины полимера, в то время как интенсивность флуоресценции коррелирует с молярным содержанием соответствующего полимера, *например*, гликана. Другие способы оценки гликанов, связанных с антигенсвязывающими фрагментами, включают способы, описанные Bondt et ak, 2014, Mol. & Cell. Proteomics 13.11 :3029-3039, Huang et ah, 2006, Anal. Biochem. 349: 197-207, и/или Song et ah, 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666.

Гомогенность или гетерогенность паттернов гликанов, связанных с антителами (включая антигенсвязывающие фрагменты), поскольку это относится как к длине или размеру гликанов, так и к количеству гликанов, присутствующих в сайтах гликозилирования, можно оценить с использованием способов, известных в данной области, *например*, способов измерения длины или размера гликана и гидродинамического радиуса. Хроматография HPLC, такая как эксклюзионная, с нормальной фазой, с обращенной фазой и анионообменная HPLC, а также капиллярный электрофорез позволяют измерять гидродинамический радиус. Более высокое количество сайтов гликозилирования в белке приводит к более сильному изменению гидродинамического радиуса по сравнению с носителем с меньшим количеством сайтов гликозилирования. Однако, когда анализу подвергают отдельные гликановые цепи, они могут быть более однородными из-за более контролируемой длины. Длина гликана может быть измерена с помощью гидразинолиза, SDS PAGE и капиллярного гель-электрофореза. Кроме того, гомогенность может также означать, что определенные паттерны использования сайтов гликозилирования изменяются в

более широком/узком диапазоне. Эти факторы могут быть измерены с помощью гликопептида LC-MS/MS.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или их антигенсвязывающие фрагменты также не содержат обнаруживаемые NeuGc и/или α-Gal. Термин «обнаруживаемый NeuGc» или «обнаруживаемый α-Gal», или «не содержит или не имеет NeuGc или α-Gal» означает в настоящем документе, что HuPTM mAb или антигенсвязывающий фрагмент не содержит фрагменты NeuGc или α-Gal, обнаруживаемые с помощью стандартных способов анализа, известных в данной области. Например, NeuGc может быть обнаружен с помощью HPLC в соответствии с публикацией Hara et al., 1989, "Highly Sensitive Determination of *N*-Acetyl and *N*-Glycolylneuraminic Acids in Human Serum and Urine and Rat Serum by Reversed-Phase Liquid Chromatography with Fluorescence Detection." J. Chromatogr, B: Biomed. 377, 111-119, которая настоящим включена посредством ссылки для способа обнаружения NeuGc. Альтернативно, NeuGc может быть обнаружен с помощью масс-спектрометрии. α-Gal может быть обнаружен с использованием ELISA, см., например, Galili et al., 1998,"A sensitive assay for measuring a-Gal epitope expression on cells by a monoclonal anti-Gal antibody." Transplantation. 65(8): 1129-32, или с помощью масс-спектрометрии, см., например, Ayoub et al., 2013, "Correct primary structure assessment and extensive glyco-profiling of cetuximab by a combination of intact, middle-up, middle-down and bottom-up ESI and MALDI mass spectrometry techniques." Landes Bioscience. 5(5):699—710. См. также ссылки, цитируемые в Platts-Mills et al., 2015,"Anaphylaxis to the Carbohydrate Side-Chain Alpha-gal" Immunol Allergy Clin North Am. 35(2): 247-260.

Преимущества N-гликозилирования

N-гликозилирование дает многочисленные преимущества для описанных в настоящем документе HuPTM mAb, HuGlyFab или HuPTM scFv. Такие преимущества недостижимы при продуцировании антигенсвязывающих фрагментов в *E. coli*, поскольку *E. coli* в природе не обладает компонентами, необходимыми для N-гликозилирования. Кроме того, некоторые преимущества недостижимы из-за продукции антител, *например*, в клетках CHO (или мышиных клетках, таких как клетки NS0), поскольку в клетках CHO отсутствуют компоненты, необходимые для добавления определенных гликанов (*например*, 2,6-сиаловой кислоты и деления пополам GlcNAc) и потому что либо CHO, либо мышиные клеточные линии добавляют N-N-гликолилнейраминовую кислоту («Neu5Gc» или «NeuGc»), которая не является природной для человека (и потенциально иммуногенной), вместо N-

ацетилнейраминовой кислоты («Neu5Ac»), преобладающей сиаловой кислоты у человека. См., например, публикацию Dumont et al., 2015, Crit. Rev. Biotechnol. 36(6): 1110-1122; Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349: 197-207 (NeuGc является преобладающей сиаловой кислотой в мышиных клеточных линиях, таких как SP2/0 и NS0); и Song et al., 2014, Anal. Chem. 86: 5661-5666, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Кроме того, клетки CHO могут также продуцировать иммуногенный гликан, антиген α-Gal, который реагирует с антителами к α-Gal, присутствующими у большинства людей, что при высоких концентрациях может вызывать анафилаксию. *См., например*, Bosques, 2010, Nat. Biotech. 28: 1153-1156. Паттерн гликозилирования у человека HuGlyFab или HuPTM scFv, описанный в настоящем документе, должен снижать иммуногенность трансгенного продукта и повышать эффективность.

Хотя неканонические сайты гликозилирования, как правило, приводят к низкому уровню гликозилирования (*например*, 1-5%) популяции антител, функциональные преимущества могут быть значительными (*см.*, *например*, van de Bovenkamp et al., 2016, J. Immunol. 196:1435-1441). Например, гликозилирование Fab может влиять на стабильность, время полужизни и характеристики связывания антитела. Чтобы определить влияние гликозилирования Fab на аффинность антитела к его мишени, может быть использован любой способ, известный специалисту в данной области, например, твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) или поверхностный плазмонный резонанс (SPR). Чтобы определить влияние гликозилирования Fab на время полужизни антитела, может быть использован любой способ, известный специалисту в данной области, например, путем измерения уровней радиоактивности в крови или органах у субъекта, которому введено меченное радиоактивным изотопом антитело. Для определения влияния гликозилирования Fab на стабильность, например, уровней агрегации или разворачивания белка антитела, может быть использован любой способ, известный специалисту в данной области, например, дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC), высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC), *например*, эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография (SEC-HPLC), капиллярный электрофорез, масс-спектрометрия или измерение мутности.

Присутствие сиаловой кислоты на HuPTM mAb, HuGlyFab или HuPTM scFv, используемых в описанных в настоящем документе способах, может влиять на скорость клиренса HuPTM mAb, HuGlyFab или HuPTM scFv. Соответственно,

паттерны сиаловой кислоты HuPTM mAb, HuGlyFab или HuPTM scFv могут быть использованы для создания терапевтического средства, имеющего оптимизированную скорость клиренса. Способы оценки скорости клиренса антигенсвязывающих фрагментов известны в данной области. *См.*, *например*, Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207.

В другом конкретном варианте осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, представляет собой сниженную агрегацию. Занятые сайты N-гликозилирования могут маскировать склонные к агрегации аминокислотные остатки, что приводит к снижению агрегации. Такие сайты N-гликозилирования могут быть нативными по отношению к антигенсвязывающему фрагменту, используемому в настоящем документе, или могут быть встроены в антигенсвязывающий фрагмент, используемый в настоящем документе, в результате чего HuGlyFab или HuPTM scFv менее склонны к агрегации при экспрессии, *например*, в клетках человека. Способы оценки агрегации антител известны в данной области. *См., например*, Courtois et al., 2016, mAbs 8:99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

В другом конкретном варианте осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, заключается в снижении иммуногенности. Такие сайты N-гликозилирования могут быть нативными для антигенсвязывающего фрагмента, используемого в настоящем документе, или могут быть встроены в антигенсвязывающий фрагмент, используемый в настоящем документе, что приводит к HuPTM mAb, HuGlyFab или HuPTM scFv, которые менее склонны к иммуногенности при экспрессии, например, экспрессируются в клетках сетчатки человека, клетках ЦНС человека, клетках печени человека или мышечных клетках человека.

В другом конкретном варианте осуществления преимущество N-гликозилирования заключается в стабильности белка. Хорошо известно, что N-гликозилирование белков придает им стабильность, и в данной области известны способы оценки стабильности белков, образующихся в результате N-гликозилирования. *См., например*, Sola and Griebenow, 2009, J Pharm Sci., 98 (4): 1223-1245.

В другом конкретном варианте осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, представляет собой измененную аффинность связывания. В данной области известно, что присутствие сайтов N-гликозилирования в вариабельных доменах антитела может увеличивать аффинность антитела к его антигену. *См.*,

например, Bovenkamp et al., 2016, J. Immunol. 196:1435-1441. Анализы для измерения аффинности связывания антител известны в данной области. *См.*, *например*, Wright et al., 1991, EMBO J. 10:2717-2723; и Leibiger et al., 1999, Biochem. J. 338:529-538.

5.2.2 Сульфатирование тирозина

Сульфатирование тирозина происходит в остатках тирозина (Y) с глутаматом (E) или аспартатом (D) в пределах от +5 до -5 положения от Y, и где положение -1 Y представляет собой нейтральную или кислую заряженную аминокислоту, но не основную аминокислоту, *например*, аргинин (R), лизин (K) или гистидин (H), которая устраняет сульфатирование. Описанные в настоящем документе HuGlyFab и HuPTM scFv содержат сайты сульфатирования тирозина (см. фиг. 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F).

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

Сульфатирование тирозина выгодно по нескольким причинам. Например, было показано, что сульфатирование тирозина антигенсвязывающего фрагмента терапевтических антител против мишеней резко увеличивает авидность к антигену и активность. *См., например*, Loos et al., 2015, PNAS 112: 12675-12680 и Choe et al., 2003, Cell 114: 161-170. Анализы для выявления сульфатирования тирозина известны в данной области. *См., например*, Yang et al., 2015, Molecules 20:2138-2164.

5.2.3 O-гликозилирование

O-гликозилирование предусматривает добавление N-ацетилгалактозамина к остаткам серина или треонина под действием фермента. Было продемонстрировано, что аминокислотные остатки, присутствующие в шарнирной области антител, могут быть O-гликозилированными. В некоторых вариантах осуществления HuGlyFab содержит всю или часть их шарнирной области и, таким образом, способны к O-гликозилированию при экспрессии в клетках человека. Возможность O-

гликозилирования дает еще одно преимущество HuGlyFab, представленному в настоящем документе, по сравнению, *например*, с антигенсвязывающими фрагментами, продуцируемыми в *E. coli*, опять же, поскольку *E. coli* в природе не содержит механизма, эквивалентного тому, который используется при человеческом O-гликозилировании. (Вместо этого, O-гликозилирование в *E. coli* было продемонстрировано только тогда, когда бактерии модифицированы, чтобы содержать специфические механизмы O-гликозилирования. *См., например*, Farid-Moayer et al., 2007, J. Bacteriol. 189:8088-8098.) O-гликозилированный HuGlyFab благодаря наличию гликанов обладает общими характеристиками с N-гликозилированным HuGlyFab (как обсуждалось выше).

5.3 ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА НА ОСНОВЕ ВЕКТОРОВ

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

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с бета-амилоидными пептидами (Aβ или Abeta), полученными из белка-предшественника амилоида, которые могут иметь преимущество при лечении болезни Альцгеймера (AD) и т.п. В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой соланезумаб, или GSK933776, или леканемаб, или антигенсвязывающий фрагмент одного из вышеперечисленных. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов этих антител представлены на фиг. 2A-C, соответственно. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей Aβ-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов болезни Альцгеймера, для создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный организмом человека, трансгенный продукт.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с Aβ, которые можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие

антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с Aβ, такого как соланезумаб, леканемаб или GSK933776, или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-Aβ антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (*например*, см. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8:99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмена содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части соланезумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 2A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 71 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи соланезумаба) и SEQ ID NO: 72 (кодирующие Fab-часть легкой цепи соланезумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к Fab-фрагментам, включая последовательности вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также последовательности C_L и C_H1, трансгены могут содержать на С-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-Aβ антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи и домен C_H1 SEQ ID NO: 1 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей все или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), и конкретно, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 2A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 71 кодирующими шарнирную область

последовательностями, представленными в таблице 5 (SEQ ID NO: 71). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 290 из таблицы 7, SEQ ID NO: 283 или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

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

связывающий антиген Aβ фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (*например*, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2A), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab соланезумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L107N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR соланезумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепей на фиг. 2A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-Aβ антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части GSK933776 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 2B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 73 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи GSK933776) и SEQ ID NO: 74 (кодирующие Fab-часть легкой цепи GSK933776), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в человеческих клетках, в частности, человеческих клетках ЦНС. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной

последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или сигнальной последовательностью, приведенной в таблице 2.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_H1 и C_L, трансгены могут содержать, на С-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления домен, связывающий анти-Аβ антиген, содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGA (SEQ ID NO: 202), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO : 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPK S CDKTHT CPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPK S CDKTHT CPPCPAPEL AGAP S VFL (SEQ ID NO: 204) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELAGAPSVFL (SEQ ID NO: 205), как показано на фиг. 2B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 3 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 73). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как как SEQ ID NO: 291 (таблица 7), или, альтернативно, SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. В конкретных вариантах осуществления Fc-домен имеет замены аланина в положениях 235 и 237 (нумерация ЕС). Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Аβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Аβ фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Аβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Аβ фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах

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

В некоторых вариантах осуществления трансген, кодирующий анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента, кодирует гипергликозилированный Fab GSK933776, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L110N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген, кодирующий анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR GSK933776, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 2B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в

зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепей анти-Aβ антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части леканемаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 360 и 361, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 2C). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в человеческих клетках. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 376 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи леканемаба) и SEQ ID NO: 377 (кодирующие Fab-часть легкой цепи леканемаба), как представлено в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к Fab-фрагментам, включая последовательности вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, и домены C_L и C_H1, трансгены могут содержать на C-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-Aβ антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи и домен C_H1 SEQ ID NO: 360 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPK SCDKTHT CPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 2C. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 376 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 376). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на C-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен

IgG1, такой как SEQ ID NO: 392 из таблицы 7, SEQ ID No. 283 или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 361. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген Aβ фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 360. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 361, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 360. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 360 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (*например*, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2C), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 361 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех

областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2C), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab леканемаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 360 и 361, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T119N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR леканемаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 2C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-Aβ антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей, страдающих болезнью Альцгеймера (AD), путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-Aβ антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой соланезумаб, леканемаб или GSK933776 и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В других вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное антитело, имеющее Fc-область. В некоторых вариантах осуществления у пациента диагностирована болезнь Альцгеймера и/или имеются симптомы, связанные с продромальным периодом AD, *например*, с легким когнитивным нарушением, связанным с ранним AD или даже пред-AD. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.1. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантные векторы можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, например, путем

введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). Подробную информацию о методах лечения см. в разделе 5.5.1.

Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-Aβ терапию. В конкретных вариантах осуществления способы предусматривают лечение пациентов, у которых диагностирована болезнь Альцгеймера или у которых один или более симптомов связаны с ней, и которые определены как отвечающие на лечение анти-Aβ антителом. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению соланезумабом, леканемабом или GSK933776 и, было обнаружено, что они чувствительны к соланезумабу, леканемабу или GSK933776. Для определения чувствительности трансгенный продукт анти-Aβ антитела или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-Aβ HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекула для лечения AD, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-Aβ HuPTM Fab или HuPTM mAb, интратекально, особенно посредством интерцистернального или поясничного введения, или внутривенно введением субъектам-людям (пациентам), у которых диагностировано или имеется один или несколько симптомов AD, чтобы создать постоянное депо в ЦНС, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками ЦНС.

Конструкция кДНК для анти-Aβ HuPTM mAb или анти-Aβ HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146).

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

В конкретных вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей соланезумаба, как показано на фиг. 2A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайты тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям N56, Q104 и/или N154 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 1), или Q105, N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 2). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей соланезумаба имеет группу сульфатирования в Y94, Y95 и/или Y101 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 1) или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 2). В других вариантах осуществления HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (*например*, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления анти-Aβ-HuPTM mAb представляет собой полноразмерное mAb с Fc-областью, например, Fc-доменом SEQ ID NO 290 или, альтернативно, SEQ ID NO: 283, SEQ ID NO: 284 или SEQ ID NO: 285, или его мутант, или вариант.

В конкретных вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей GSK933776, как показано на фиг. 2B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N32, Q107 и/или N157 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 3), или N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 4). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAh или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей GSK933776 имеет группу сульфирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 3) или Y91

и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 4). В других вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления анти-Aβ-HuPTM mAb представляет собой полноразмерное mAb с Fc-областью, например, Fc-доменом SEQ ID NO: 291 или, альтернативно, SEQ ID NO: 283, SEQ ID NO: 284 или SEQ ID NO: 285, или его мутант или вариант, и, например, имеет замены аланина в положениях 235 и 237 (нумерация ЕС).

В конкретных вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент имеет тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-фрагментов тяжелой и легкой цепей леканемаба, как показано на фиг. 2C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q116 и/или N166 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 360), или N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 361). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей леканемаба имеет группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 360) или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 361). В других вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb представляет собой полноразмерное mAb с Fc-областью, например, Fc-доменом SEQ ID NO: 392 или, альтернативно, SEQ ID NO: 283, или его мутант или вариант. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6 сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован 2,6- сиалилированием и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка

прогрессирования AD, в частности, когнитивных нарушений. Эффективность можно контролировать путем измерения уменьшения образования бляшек и/или улучшения когнитивной функции или снижения ухудшения когнитивных функций.

Комбинации доставки анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения AD, которые можно комбинировать с генной терапией, описанной в настоящем документе, включают, но без ограничения, ARICEPT® (донепезил), RAZADYNE® (галантамин), NAMENDA® (ривастигмин) и NAMZARIC® (донепезил и мемантин), чтобы назвать несколько, и введение с агентами против Aβ, включая, но без ограничения, соланезумаб, GSK933776 или леканемаб, или агенты против тау-белка, такие как aTAU.

5.3.2. Анти-сортилин HuPTM конструкции и составы для лечения лобно-височной деменции

Описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с сортилином, что может иметь положительный эффект при лечении лобно-височной деменции (FD). В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой AL-001 или антигенсвязывающий фрагмент AL-001. Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей Fab-фрагментов этого антитела представлены на фиг. 3. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей сортилин-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов FD, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человека PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с сортилином, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет

собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с сортилином, таким как AL-001 или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-сортилин антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-сортилин антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части AL-001 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 5 и 6, соответственно, см. таблицу 5 и фиг.3). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 75 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи AL-001) и SEQ ID NO: 76 (кодирующие Fab-часть легкой цепи AL-001), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей и доменам C_H1 и C_L, трансгены могут содержать на С-конце последовательность всей или части шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-сортилин антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 5 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 3. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 75 кодирующими шарнирные области последовательностями,

представленным в таблице 6 (SEQ ID NO: 75). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как как SEQ ID No. 283 или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

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

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 3) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-сортилин антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab или mAb AL-001, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 5 и 6, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T124N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E199N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-сортилин антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR AL-001, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 3, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к сортилину или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения людей-субъектов от лобно-височной деменции (FD) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к сортилину или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой AL-001 и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления трансген кодирует полноразмерное или по существу полноразмерное mAb Al-001, включая Fc-область. В некоторых вариантах осуществления у пациента диагностирована FD и/или имеются симптомы, связанные с FD или продромальной FD, *например*, легкое когнитивное нарушение, связанное с ранним FD или даже пред-FD. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.1. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать

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

Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-сортилин терапию. В конкретных вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых была диагностирована FD или у которых один или более симптомов связаны с ней и которые определены как отвечающие на лечение антителом к сортилину или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к сортилину. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью AL-001, и было обнаружено, что они чувствительны к AL-001. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к сортилину или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Производство анти-сортилин HuPTM mAh или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения FD, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-сортилин HuPTM Fab или HuPTM mAb, интратекально, в частности, посредством интрацистернального или поясничного введения, или внутривенного введения субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов FD, чтобы создать постоянное депо в ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным организмом человека, сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемый трансдуцированными клетками ЦНС.

Конструкция кДНК для анти-сортилин HuPTM mAb или анти-сортилин HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146).

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к сортилину или HuPTM Fab можно продуцировать в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводить пациентам с диагнозом FD, или тем, для кого терапия FD считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb к сортилину или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи AL-001, как показано на фиг. 3 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений) характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q121 и/или N171 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 5) или N32, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 6). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи AL-001 содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 5) или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 6). В других вариантах осуществления HuPTM mAb к сортилину или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже), фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления анти-сортилин-HuPTM mAb представляет собой полноразмерное mAb с Fc-областью, например, Fc-доменом SEQ ID NO: 283, SEQ ID NO: 284 или SEQ ID NO: 285, или его мутант или вариант.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6-сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Цель представленной в настоящем документе генной терапии заключается в замедлении или остановке прогрессирования FD, в частности, когнитивных нарушений. Эффективность можно контролировать путем измерения улучшения когнитивной функции и/или снижения ухудшения поведения, личности и/или трудностей с воспроизведением или пониманием языка.

Комбинации доставки анти-сортилин HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения FD, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспечены в настоящем документе.

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

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с тау-белком (Tau), таким как мономерный тау, олигомерный тау, нефосфорилированный тау и фосфорилированный тау, что может быть применено при лечении болезни Альцгеймера (AD), хронической травматической энцефалопатии (CTE), комплекса Пика, первичной возрастной таупатии, прогрессирующего надъядерного паралича (PSP), лобно-височной деменции (FD) и других таупатий. В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой ABBV-8E12, UCB-0107 и NI-105 (BIIB076) или антигенсвязывающий фрагмент одного из вышеперечисленных. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов этих антител представлены на фиг. 4A-C. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей тау-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или его гипергликозилированное производное или другое производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов AD, CTE, PSP, FD или других таупатий, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

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

ABBV-8E12, UCB-0107 и NI-105 (BIIB076), или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-тау антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части ABBV-8E12 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 4A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 77 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи ABBV-8E12) и SEQ ID NO: 78 (кодирующие Fab-часть легкой цепи ABBV-8E12), как показано в таблице. 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в человеческих клетках, в частности, в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_H1 и C_L, трансгены могут содержать на C-конце домена C_H1 всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-тау антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого тирозина (Y), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ESKYGPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 214) и, в частности, ESKYGPPCPPCPA (SEQ ID NO: 216), ESKYGPPCPSCPA (SEQ ID NO: 217), ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 218) или ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 219), как показано на фиг. 4A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 77 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5 (SEQ ID NO: 77). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела,

содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1 или IgG4, такие как SEQ ID NO: 283 или 285, в том числе с заменой S241P (нумерация EU) или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

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

делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 4A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab ABBV-8E12, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T110N (тяжелая цепь), Q164N или Q164S (легкая цепь) и/или E199N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ABBV-8E12, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 4A, которые расположены между каркасными областями, в основном человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к тау или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части UCB-0107 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 4B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 79 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи UCB-0107) и SEQ ID NO: 80 (кодирующие Fab-часть легкой цепи UCB-0107), как показано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одну из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-тау антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 9 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ESKYGPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 214), и в частности, ESKYGPPCPPCPA (SEQ ID NO: 216), ESKYGPPCPSCPA (SEQ ID NO: 217), ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 218) или ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 219), как показано на фиг. 4В. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 79 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5 (SEQ ID NO: 79). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, SEQ ID NO. 292 (таблица 7), или Fc-домен IgG4, такой как SEQ ID No. 285, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген тау фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген тау фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична

последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 10, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 9. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген тау фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 с 1, 2, 3, 4 , 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 4B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген тау фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 4B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab UCB-0107, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: M113N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR UCB-0107, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 4B, которые расположены между каркасными областями, в основном человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к тау или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части NI-105 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 11 и 12, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 4C). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 81 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи NI-105) и SEQ ID NO: 82 (кодирующие Fab-часть легкой цепи NI-105), как указано в таблице. 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_H1 и CL, трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C_H1 всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-тау антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 11 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGA (SEQ ID NO: 202), и в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFL (SEQ ID NO: 204) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELAGAPSVFL (SEQ ID NO: 205), как показано на фиг. 4C. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 81 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 5 (SEQ ID NO: 81). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на C-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как как SEQ ID No. 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

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

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab NI-105, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 11 и 12, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутации: L119N (тяжелая цепь) и/или Q196N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR NI-105, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 4C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к тау или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от AD, CTE, PSP, FD или других таупатий путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к тау или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой ABBV-8E12, UCB-0107 или NI-105 (BIIB076) и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью. В некоторых вариантах осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с продромальной AD, например, с легким когнитивным нарушением, связанным с ранней AD или даже пред-AD. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.1. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантные векторы можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, например, путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). См. раздел 5.5.1 для получения подробной информации о способах лечения.

Субъекты, у которых проводят такую генную терапию, могут быть теми, кто отвечает на анти-тау терапию. В конкретных вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых были диагностированы AD, PSP или FD,

или у которых один или несколько симптомов связаны с ними, и которые определены как отвечающие на лечение антителом к тау или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к тау. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью ABBV-8E12, UCB-0107 и/или NI-105 (BIIB076), и было обнаружено, что они чувствительны к ABBV-8E12, UCB-0107 и/или NI-105 (BIIB076). Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к тау или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

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

Конструкция кДНК для анти-тау HuPTM mAb или анти-тау HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146).

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

В конкретных вариантах осуществления анти-тау HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи ABBV-8E12, как показано на

фиг. 4A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N57, Q107, N157 и/или N199 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 7), или N78, Q104, N162 и/или N214 легкой цепи (SEQ ID NO: 8). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи ABBV-8E12 имеет группу сульфирования в Y96, Y97 и/или Y104 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 7) и/или Y90 и/или Y91 легкой цепи (SEQ ID NO: 8). В других вариантах осуществления анти-тау HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-тау HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи UCB-0107, как показано на фиг. 4B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям N32, N58, N76, QUO, N160 и/или N202 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 9), или N99, N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 10). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи UCB-0107 имеет группу сульфирования в Y93, Y94, Y101 и/или Y102 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 9) и/или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 10). В других вариантах осуществления анти-тау HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с

помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-тау HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи NI-105, как показано на фиг. 4C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77, N107, Q116 и/или N166 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 11), и/или N172 легкой цепи (SEQ ID NO: 12). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи NI-105 имеет группу сульфатирования в Y93 и/или Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 11), и/или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 12). В других вариантах осуществления анти-тау HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6-сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования AD, PSP или FD, в частности, когнитивных нарушений, грубых или мелких двигательных навыков или нарушений зрения. Эффективность можно контролировать путем измерения уменьшения образования бляшек и/или улучшения когнитивной функции, двигательных навыков или зрения, или снижения ухудшения когнитивных функций, двигательных навыков или зрения.

Комбинации доставки анти-тау HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительное лечение можно вводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения AD, PSP или FD, которые можно комбинировать с генной терапией, описанной в настоящем документе, включают, но без ограничения, ARICEPT® (донепезил), RAZADYNE® (галантамин), NAMENDA® (ривастигмин) и NAMZARIC® (донепезил и мемантин), чтобы назвать несколько, и введение с анти-тау агентами, включая, но без ограничения, антитела против тау, такие как, но без ограничения, ABBV-8E12, UCB-0107 или NI-105, а также анти-Aβ агенты, такие как, но без ограничения, соланезумаб, леканемаб или GSK933776.

5.3.4. Анти-SEMA4D HuPTM конструкции и составы для лечения болезни Хантингтона

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с семафорином 4D (SEMA4D), что может быть применимо при лечении болезни Хантингтона (HD) и ювенильной болезни Хантингтона (JHD). В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой VX15/2503 или антигенсвязывающий фрагмент VX15/2503. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов этого антитела представлены на фиг. 5. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей SEMA4D-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или его гипергликозилированное производное или другое производное), пациентам (субъектам-людям), у которых диагностирована или имеется один или несколько симптомов HD, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с SEMA4D, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с SEMA4D, например

VX15/2503, или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-SEMA4D антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SEMA4D антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части VX15/2503 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 13 и 14, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 5). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 83 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи VX15/2503) и SEQ ID NO: 84 (кодирующие Fab-часть легкой цепи VX15/2503), как указано в таблице. 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотную последовательность MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_H1 и C_L, трансгены могут содержать на С-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-SEMA4D антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи и C_H1-домен SEQ ID NO: 13 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ESKYGPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 214) и, в частности, ESKYGPPCPPCPA (SEQ ID NO: 216), ESKYGPPCPSCPA (SEQ ID NO: 217), ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 218) или ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 219), как показано на фиг. 5. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 83 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 83). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие

цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG4, такой как как SEQ ID No. 285 или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SEMA4D антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген фрагмент SEMA4D, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SEMA4D антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген фрагмент SEMA4D, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SEMA4D антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 14, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 13. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген фрагмент SEMA4D содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20А. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген фрагмент SEMA4D содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или

делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 5) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SEMA4D антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный VX15/2503 Fab, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T113N (тяжелая цепь), Q156N или Q156S (легкая цепь) и/или E191N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SEMA4D антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR VX15/2503, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 5, которые расположены между каркасными областями, в основном человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к SEMA4D или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей с HD или ювенильной HD путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к SEMA4D, или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой VX15/2503 и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления трансген кодирует полноразмерное или по существу полноразмерное VX15/2503. В некоторых вариантах осуществления у пациента диагностирована и/или имеются симптомы, связанные с HD, например, легкие непроизвольные движения, тремор и/или дистония, связанные с ранней HD или даже пред-HD. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.1. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантные векторы можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, например, путем введения рекомбинантного вектора в

спинномозговую жидкость (CSF). См. раздел 5.5.1. для получения подробной информации о способах лечения.

Субъектами, у которых проводят такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на анти-SEMA4D терапию. В конкретных вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, которым был поставлен диагноз HD, или у которых один или более симптомов связаны с ними, и которые определены как отвечающие на лечение антителом к SEMA4D или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к SEMA4D. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью VX15/2503, и было обнаружено, что они чувствительны к VX15/2503. Для определения чувствительности, трансгенный продукт антитела к SEMA4D или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-SEMA4D HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения HD, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-SEMA4D HuPTM Fab, интратекально, в частности, посредством интрацистернального или поясничного введения, или внутривенного введения субъектам-людям (пациентам), у которых диагностировано или имеется один или более симптомов HD, чтобы создать постоянного депо в ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным организмом человека, сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемый трансдуцированными клетками ЦНС.

Конструкция кДНК для анти-SEMA4D HuPTM mAb или анти-SEMA4D HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146).

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-SEMA4D HuPTM mAb или HuPTM Fab могут быть продуцированы в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам

с диагнозом HD или ювенильной HD, или для которых терапия HD или ювенильной HD считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления анти-SEMA4D HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи VX15/2503, как показано на фиг. 5 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений) характеризуется гликозилированием, особенно 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N61, Q110, N160 и/или N207 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 13), или N22, Q104, N154 и/или N206 легкой цепи (SEQ ID NO: 14). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепей VX15/2503 имеет группу сульфатирования в Y94, Y95, Y99, Y100 и/или Y101 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 13) или Y31, Y36, Y90 и/или Y91 легкой цепи (SEQ ID NO: 14). В других вариантах осуществления анти-SEMA4D HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6-сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Цель лечения представленной в настоящем документе генной терапии заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование HD или ювенильной HD, в частности, нарушения непроизвольных движений. Эффективность можно контролировать путем измерения улучшений движения, дистонии и/или улучшения когнитивной функции или уменьшения ухудшения контроля над хореей и когнитивной функции. В случае ювенильной HD эффективность можно контролировать путем

измерения улучшения жесткости мышц, дистонии и/или хореи или снижения ухудшения мышечной и когнитивной функции.

Комбинации доставки анти-SEMA4D HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных методов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения HD или ювенильной HD, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, речевую, физическую и профессиональную терапию, XENAZINE® (тетрабеназин), KLONOPIN® (клоназепам), HALDOL® (галоперидол), CLORAZIL® (клозапин), PROZAD® (флуоксетин), ZOLOFT® (сертралин) и PAMELOR® (нортриптилин), и введение с анти-SEMA4D агентами, включая, но без ограничения, VX15/2503.

5.3.5. Анти-альфа-синуклеин HuPTM конструкции и составы для лечения болезни Паркинсона и синуклеинопатий

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с альфа-синуклеином (SNCA), который может быть применим при лечении болезни Паркинсона (PD) и других синуклеинопатий, таких как как деменция с тельцами Леви (DLB), чистая вегетативная недостаточность (PAF) и множественная системная атрофия (MSA). В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой празинезумаб, NI-202 (BIIB054) и MED-1341, или антигенсвязывающий фрагмент одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов этих антител представлены на фиг. 6A-C. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей SNCA-связывающее mAb HuPTM (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов PD, DLB, PAF, MSA, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человека PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM

mAb), который связывается с SNCA, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с SNCA, например, празинезумаб, NI-202 (BIIB054) или MED-1341, или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-SNCA антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, который полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части празинезумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 15 и 16, соответственно, см. таблицу 5 и 6A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 85 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи празинезумаба) и SEQ ID NO: 86 (кодирующие Fab-часть легкой цепи празинезумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-SNCA антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 15 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 6A.

Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 85 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 5 (SEQ ID NO: 85). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 293 (таблица 7), или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент SNCA, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент SNCA, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 15. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86 %, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 16, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 15. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SNCA фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты

на фиг. 6A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SNCA фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 6A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-тау антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab празинезумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 15 и 16, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L119N (тяжелая цепь), Q166N или Q166S (легкая цепь) и/или E201N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR празинезумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 6A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к SNCA или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части NI-202 (имеющей аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 17 и 18, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 6B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 87 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи NI-202) и SEQ ID NO: 88 (кодирующие Fab-часть легкой цепи NI-202), как показано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат

сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-SNCA антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 17 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 6B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 87 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 5 (SEQ ID NO: 87). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283 или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент SNCA, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент SNCA, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%

идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 18, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SNCA фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 с 1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 6B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SNCA фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 6B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab NI-202, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 17 и 18, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L119N (тяжелая цепь), Q166N или Q166S (легкая цепь) и/или E199N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR NI-202, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на

фиг. 6B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к SNCA или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части MED-1341 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 19 и 20, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 6C). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 89 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи MEDI-1341) и SEQ ID NO: 90 (кодирующие Fab-часть легкой цепи MEDI-1341), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, и C_H1 или C_L, трансгены могут содержать на C-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-SNCA антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 19 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGG (SEQ ID NO: 206) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFL (SEQ ID NO: 208) или EPKSCDKTHLCPPCPAPEFEGGPSVFL (SEQ ID NO: 209), как показано на фиг. 6C. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 89 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 89). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие

полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 294 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

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

9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 6C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab MEDI-1341, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 19 и 20, соответственно, с одной или более из следующих мутации: T117N (тяжелая цепь) и/или Q203N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SNCA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR MEDI-1341, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 6C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к SNCA или его антигенсвязывающего фрагмента.

Методы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от PD, DLB, PAF, MSA или других синульцеинопатий путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к SNCA или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой празинезумаб, NI-202 (BIIB054) или MED-1341, например. его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В других вариантах осуществления трансген кодирует полноразмерное или по существу полноразмерное антитело с Fc-областью. В некоторых вариантах осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с PD или другими синульцеинопатиями, например, легкое нарушение когнитивных функций и/или двигательных навыков, связанное с ранней PD или даже пред-PD. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.1. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10,

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

Субъекты, которым проводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-SNCA терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был поставлен диагноз PD, DLB, PAF или MSA, или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к SNCA или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к SNCA. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью празинезумаба, NI-202 (BIIB054) и/или MED-1341, и было обнаружено, что они чувствительны к празинезумабу, NI-202 (BIIB054) и/или MED-1341. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к SNCA или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-SNCA HuPTM mAh или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения PD, DLB, PAF или MSA, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-SNCA HuPTM Fab или HuPTM mAb, интратекально, в частности, посредством интрацистернального или поясничного введения, или внутривенного введения субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов PD, DLB, PAF или MSA, чтобы создать постоянное депо в ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным организмом человека сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемым трансдуцированными клетками ЦНС.

Конструкция кДНК для HuPTMmAb к SNCA или анти-SNCA HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTN S (SEQ ID NO: 146).

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-SNCA HuPTM mAb или HuPTM Fab можно продуцировать в клеточных линиях

человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом PD, DLB, PAF или MSA, или тем, для кого терапия PD, DLB, PAF или MSA считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb к SNCA или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей празинезумаба, как показано на фиг. 6A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q108 и/или N158 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 15) или N34, N164 и/или N216 легкой цепи (SEQ ID NO: 16). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи празинезумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 15) и/или Y92 и/или Y93 легкой цепи (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления HuPTM mAb к SNCA или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb к SNCA или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи NI-202, как показано на фиг. 6B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям N71, Q116 и/или N166 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 17) или N34, N164 и/или N216 легкой цепи (SEQ ID NO: 18). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи NI-202

содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 17) или Y92 и/или Y93 легкой цепи (SEQ ID NO: 18). В других вариантах осуществления HuPTM mAb к SNCA или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, как детектируемые с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb к SNCA или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей MEDI-1341, как показано на фиг. 6C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77, Q114 и/или N164 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 19) или N172 легкой цепи (SEQ ID NO: 20). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепей MED-1341 содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 19) или Y94 и/или Y95 легкой цепи (SEQ ID NO: 20). В других вариантах осуществления HuPTM mAb к SNCA или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6 сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или

даже 50% или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Цель представленной в настоящем документе генной терапии заключается в замедлении или остановка прогрессирования PD, DLB, PFA или MSP, особенно когнитивных нарушений, грубых или мелких нарушений моторики или ухудшения зрения. Эффективность можно контролировать путем измерения улучшение когнитивной функции, моторных навыков (то есть осанки, равновесия, тремора) и/или зрения, или уменьшения ухудшения когнитивной функции, моторных навыков или зрения.

Комбинации доставки HuPTM mAb к SNCA или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения PD, DLB, PFA или MSP, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, RYTARY®, SINEMET® или DUOPA® (карбидопа/леводопа), чтобы назвать несколько, и введение с анти-SNCA агентами, включая, но без ограничения, анти-SNCA, такие как, но без ограничения, празинезумаб, NI-202 (BIIB054) или MED-1341.

5.3.6. Анти-SOD1 HuPTM конструкции и составы для лечения болезни Альцгеймера и бокового амиотрофического склероза

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с супероксиддисмутазой 1 (SOD1), которая может быть применима при лечении AD и бокового амиотрофического склероза (ALS). В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой NI-204 или антигенсвязывающий фрагмент NI-204. Аминокислотные последовательности для Fab-фрагментов этого антитела представлены на фиг. 7 A и B. Доставка может осуществляться посредством генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей SOD1-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов AD или ALS, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человека PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с SOD1, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, который связывается с SOD1, такие как NI-204, или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-SOD1 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. публикацию Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которая полностью включена в настоящий документе посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части NI-204 (10D12) (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 21 и 22, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 7A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 91 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи NI-202 (10D12)) и SEQ ID NO: 92 (кодирующие Fab-часть легкой цепи NI-202 (10D12), как указано в таблице 6. Обе последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_H1 и C_L, трансгены могут содержать на С-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-SOD1 антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 21 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG (SEQ ID NO: 210) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA(SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO:

199), EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 212) или EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 213), как показано на фиг. 3. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 91 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 91). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющие аминокислотную последовательность SEQ ID NO; 295, или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент SOD1, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент SOD1, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 22, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 21. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SOD1 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных

областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 7A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SOD1 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 7A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab NI-202 (10D12), содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 21 и 22, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L121N (тяжелая цепь), Q159N или Q159S (легкая цепь) и/или E194N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR NI-202 (10D12), которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 7A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к SOD1 или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части NI-204 (12G7) (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 23 и 24, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 7B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 93 (кодирующие

Fab-часть тяжелой цепи NI-202 (12G7)) и SEQ ID NO: 94 (кодирующие Fab-часть легкой цепи NI-202 (12G7), как указано в таблице 6. Обе последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-SOD1 антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 23 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG (SEQ ID NO: 210) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 212) или EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 213), как показано на фиг. 7B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 93 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 93). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283 или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент SOD1, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего

фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент SOD1, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 24, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 23. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SOD1 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 7B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SOD1 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 7B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab NI-202 (12G7), содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 23 и 24, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L118N (тяжелая цепь) и/или Q196N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOD1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR NI-202 (12G7), которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 7B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к SOD1 или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от AD или ALS путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к SOD1 или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой NI-202, и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с продромальной AD, *например*, легкое когнитивное нарушение, связанное с ранней AD или даже пред-AD, или ALS.

Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.1. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантные векторы можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, например, путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). См. раздел 5.5.1 для получения подробной информации о способах лечения.

Субъектами, у которых проводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-SOD1 терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был поставлен диагноз AD или ALS, или у которых один или несколько симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к SOD1 или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к SOD1. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью NI-202, и было обнаружено, что они реагируют на NI-202. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к SOD1 или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция HuPTM mAb к SOD1 или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения AD или ALS, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к SOD1, интратекально, в частности, посредством интрацистернального или поясничного введения, или внутривенного введения субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или нескольких симптомов AD или ALS, чтобы создать постоянное депо в ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным организмом человека, сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемый трансдуцированными клетками ЦНС.

Конструкция кДНК для анти-SOD1 HuPTM mAb или анти-SOD1 HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146).

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, HuPTM mAb к SOD1 или HuPTM Fab можно продуцировать в линиях клеток человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводить пациентам с диагнозом AD или ALS, или тем, для кого терапия AD или ALS считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления анти-SOD1 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-фрагментов тяжелой и легкой цепи NI-202 (10D12), как показано на фиг. 7A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям N110 и/или N168 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 21) или Q99, N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 22). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей NI-204 имеет содержит группу сульфирования в Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 21) или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 22). В других вариантах осуществления

HuPTM mAb к SOD1 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах реализации mAb HuPTM представляет собой полноразмерное или практически полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-SOD1 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей NI-202 (12G7), как показано на фиг. 7B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N110 и/или N168 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 23) или Q99, N157 и / или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 24). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей NI-204 содержит группу сульфатирования в Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 23) или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 24). В других вариантах осуществления анти-SOD1 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% 2,6-сиалилирован и/или сульфатирован, и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Цель представленной в настоящем документе генной терапии заключается в замедлении или остановке прогрессирования AD или ALS. В случае AD эффективность можно контролировать путем измерения уменьшения образования бляшек и/или улучшения

когнитивной функции или уменьшения ухудшения когнитивной функции. В случае ALS эффективность можно контролировать путем измерения улучшения речи и/или уменьшения неловкости, аномальной утомляемости конечностей и/или мышечных судорог и подергиваний.

Комбинации доставки анти-SOD1 HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения AD, которые могут быть комбинированы с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, ARTCEPT® (донепезил), RAZADYNE® (галантамин), NAMENDA® (ривастигмин) и NAMZARTC® (донепезил и мемантин), чтобы назвать некоторые, и введение с анти-SOD1 агентами, включая, но без ограничения, NI-204. Доступные способы лечения ALS, которые могут быть комбинированы с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, RILUTEK® (рилузон), RADICAVA® (эдаравон), TIGLUTIK® (рилузол) и NUDEXTRA® (декстрометорфан HBr и сульфат хинидина), чтобы назвать несколько, и введение с анти-SOD1 агентами, включая, но без ограничения, NI-204.

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

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с пептидным рецептором, связанным с геном кальцитонина (CGRPR), который может быть применим при лечении мигреней и кластерных головных болей (относятся в совокупности к головным болям). В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой эптинезумаб, фреманезумаб, галканезумаб или антигенсвязывающий фрагмент одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов этих антител представлены на фиг. 8A-C. Доставка может осуществляться посредством генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей CGRPR-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или его гипергликозилированное производное или другое его производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов мигрени и кластерных головных болей, для создания постоянного

депо, которое непрерывно снабжает человека PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

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

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части эптинезумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25 и 26, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 8A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 95 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи эптинезумаба) и SEQ ID NO: 96 (кодирующие Fab-часть легкой цепи эптинезумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-CGRPR антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 25 с дополнительной

последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 8A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 95 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 95). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 296 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такую как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент CGRPR, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент CGRPR, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 26, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%,

88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 25. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CGRPR фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CGRPR фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab эптинезумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 25 и 26, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L106N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR эптинезумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 8A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к CGRPR или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части фреманезумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27 и 28, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 8B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 97 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи фреманезумаба) и SEQ ID NO: 98 (кодирующие Fab-часть легкой цепи фреманезумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_H1 и C_L, трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-CGRPR антигенсвязывающий домен содержит Fab-фрагмент тяжелой цепи SEQ ID NO: 27 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ERKCCVECPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 220) или ERKCCVECPPCPA (SEQ ID NO: 221), как показано на фиг. 8B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 97 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 97). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 297 (таблица 7) или Fc-домен IgG2, такой как SEQ ID NO: 284, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент CGRPR,

содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент CGRPR, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 28, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 27. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CGRPR фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 , 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CGRPR фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab

фреманезумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 27 и 28, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L117N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR фреманезумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 8B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к CGRPR или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части галканезумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 29 и 30, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 8C). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 99 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи галканезумаба) и SEQ ID NO: 100 (кодирующие Fab-часть легкой цепи галканезумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одной из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_H1 и C_L трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-CGRPR антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 29 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ESKYGPPCPPCPAPEAAGG (SEQ ID NO: 431)

или ESKYGPPCPSCPAPEAAGG (SEQ ID NO: 432), как показано на фиг. 8C. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 99 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 99). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на C-конце тяжелой цепи, например, имеющие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 298 (таблица 7) или Fc-домен IgG4, такой как SEQ ID NO: 285, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент CGRPR, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 30. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CGRPR фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 30, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 29. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CGRPR фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты

на фиг. 8C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CGRPR фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 8C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab галканезумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 29 и 30, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T114N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CGRPR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR галканезумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 8C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к CGRPR или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от мигреней и кластерных головных болей путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой эптинезумаб, фреманезумаб или галканезумаб и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент, или представляет собой полноразмерное антитело к CGRPR с Fc-областью. В некоторых вариантах осуществления у пациента диагностированы и/или имеются

симптомы, связанные с эпизодическими мигренями или хроническими мигренями. В некоторых вариантах осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с эпизодическими кластерными головными болями или хроническими кластерными головными болями. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгенов, описаны в разделе 5.4.1 и показаны на фиг. 8A-C. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантные векторы можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, например, путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). См. раздел 5.5.1 для получения подробной информации о способах лечения.

Субъекты, у которых проводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-CGRPR терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых были диагностированы мигрени или кластерные головные боли, или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к CGRPR или считающихся хорошими кандидатами для терапии антителом к CGRPR. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью эптинезумаба, фреманезумаба или галканезумаба, и было обнаружено, что они чувствительны к одному или более из следующих препаратов: эптинезумаб, фреманезумаб и галканезумаб. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к CGRPR или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток человека, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-CGRPR HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения мигреней или кластерных головных болей, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к CGRPR, интратекально, в частности, посредством интрацистернального или поясничного введения, или внутривенного введения субъектам-людям (пациентам), у которых диагностированы или имеются один или более симптомов мигреней или кластерных головных болей, чтобы создать постоянного депо в ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим

посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным организмом человека, сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемым трансдуцированными клетками ЦНС.

Конструкция кДНК для анти-CGRPR HuPTM mAb или анти-CGRPR HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками ЦНС. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146).

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-CGRPR HuPTM mAb или HuPTM Fab можно продуцировать в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводить пациентам с диагнозом мигреней или кластерных головных болей, или тем, для кого лечение мигреней или кластерных головных болей считается целесообразным.

В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей эптинезумаба, как показано на фиг. 8A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q103 и/или N153 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 25) или N21, N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 26). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи эптинезумаба содержит группу сульфирования в Y32, Y33 и/или Y93 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 25) и/или Y87 и/или Y88 легкой цепи (SEQ ID NO: 26). В других вариантах осуществления HuPTM mAb к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже), фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи фреманезумаба, как показано на фиг. 8B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q114, N164, N197 и/или N206 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 27) или N93, Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 28). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей фреманезумаба содержит группу сульфатирования в Y96, Y97 и/или Y203 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 27) или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 28). В других вариантах осуществления анти-CGRPR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-CGRPR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи галканезумаба, как показано на фиг. 8C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям Q11, N161 и/или N203 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 29) или N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 30). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей эренумаба содержит группу сульфирования в Y32 и/или Y33, и/или Y93 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 29), и/или Y86, и/или Y87 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 30). В других

вариантах осуществления HuPTM mAb к CGRPR или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2 ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2%, 2,6-сиалилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован 2,6-сиалилированием и/или сульфатирован. Цель представленной в настоящем документе генной терапии заключается в предотвращении или уменьшении интенсивности или частоты мигреней, кластерных головных болей или одного или более связанных с ними симптомов, включая тошноту, чувствительность к свету, чувствительность к звуку, покраснение глаз, отек век, потливость лба и лица, слезотечение (слезоотделение), аномально маленький размер зрачка (миоз), заложенность носа, насморк (ринорея) и опущение век (птоз). Эффективность можно контролировать путем измерения уменьшения интенсивности или частоты мигреней или кластерных головных болей, или уменьшения количества специфических для острых мигрени лекарственных средств, используемых в течение определенного периода времени.

Комбинации доставки анти-CGRPR HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются представленными в настоящем документе способами. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения кластерных головных болей или мигреней, которые можно комбинировать с генной терапией, предусмотренной в настоящем документе, включают, но без ограничения, триптаны, производные эрготамина и NSAID и многие другие, и введение с анти-CGRPR агентами, включая, но без ограничения, эптинезумаб, фреманезумаб и галканезумаб.

5.3.8. Анти-VEGF, анти-EPOR, анти-Aβ и анти-калликреин HuPTM конструкции и составы для лечения глазных заболеваний

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и его антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с фактором роста эндотелия сосудов (VEGF), рецептором эритропоэтина (EPOR), пептидами Aβ, полученными из белка-предшественника амилоида, или калликреина, соответственно, которые могут быть применимы при лечении одного или нескольких заболеваний сетчатки, включая диабетическую ретинопатию, миопическую хориоидальную неоваскуляризацию (mCNV), дегенерацию желтого пятна (например, неоваскулярную (влажную) или сухую возрастную дегенерацию желтого пятна (nAMD)), отек желтого пятна (например, макулярный отек после окклюзии вены сетчатки (RVO) или диабетический макулярный отек (DME)). В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb содержит аминокислотную последовательность севацизумаба, LKA-651, GSK933776, леканемаба или ланаделумаба, или антигенсвязывающий фрагмент одного из вышеперечисленных. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов севацизумаба, LKA-651, соланезумаба, GSK933776, леканемаба и ланаделумаба представлены на фиг. 9A-C, 2A-C и 19, соответственно. Доставка может осуществляться посредством генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей VEGF-связывающее, EPOR-связывающее, Aβ-связывающее или калликреин-связывающее HuPTM mAb (или антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное, включая scFv), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов заболевания сетчатки (например, диабетической ретинопатии, mCNV, дегенерации желтого пятна или отека желтого пятна) для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человека PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с VEGF, EPOR, Aβ или калликреином, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, который связывается с VEGF, EPOR, Aβ или калликреином, такие как севацизумаб, LKA-651, соланезумаб, леканемаб, GSK933776 или ланаделумаб, или их варианты, как подробно

описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-VEGF, анти-EPOR, анти-Aβ, анти-калликреин антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. публикацию Courtois et al.)

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части севацизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 31 и 32, соответственно, см. таблицу 5 и 9A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 101 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи севацизумаба) и SEQ ID NO: 102 (кодирующие Fab-часть легкой цепи севацизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-VEGF антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 31 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 9A.

Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 101 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 101). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 299 (таблица 7) или Fc-домена IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент VEGF, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 32. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент VEGF, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 31. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 32, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 31. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген VEGF фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в этих областях, которые находятся вне CDR, которые

подчеркнуты на фиг. 9A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген VEGF фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13., 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab севацизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 31 и 32, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: L117N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-VEGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR севацизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 9A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями и связаны с константные домены в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к VEGF или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части LKA-651 (NVS2) (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 33 и 34, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 9B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 103 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи LKA-651 (NVS2)) и SEQ ID NO: 104 (кодирующие Fab-часть

легкой цепи LKA-651 (NVS2)), как указано в таблице 6. Обе последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, приведенных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-EPOR антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 33 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO : 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 9B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 103 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 103). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283 или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент EPOR, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент EPOR, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 34, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 33. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген EPOR фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген EPOR фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab LKA-651 (NVS2), содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 33 и 34, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L112N (тяжелая цепь) и/или Q195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR LKA-651 (NVS3), которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 9C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-EPOR антитело или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части LKA-651 (NVS3) (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 35 и 36), соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 9C). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 105 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи LKA-651 (NVS3)) и SEQ ID NO: 106 (кодирующие Fab-часть легкой цепи LKA-651 (NVS3)), как указано в таблице 6. Обе последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, приведенных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-EPOR антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 35 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 9С. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 105 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 105). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283 или изображенный на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент EPOR, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 36. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент EPOR, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%,

88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 36, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 35. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген EPOR фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген EPOR фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 9C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab LKA-651 (NVS3), содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 35 и 36, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L122N (тяжелая цепь) и/или Q195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-EPOR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR LKA-651 (NVS3), которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 9C, которые расположены между каркасными областями, обычно человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области,

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

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части соланезумаба (с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO. 1 и 2, соответственно, см. таблицу 5 и 2A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 71 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи соланезумаба) и SEQ ID NO: 72 (кодирующие Fab-часть легкой цепи соланезумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к Fab-фрагментам, включая последовательности вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_L и C_H1, трансгены могут содержать на C-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления изобретения анти-Aβ-антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи и домен C_H1 SEQ ID NO: 1 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPIDNOA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 2A.

Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 71 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 71). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 290 в таблице 7, SEQ ID No. 283 или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент Aβ, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент Aβ, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом

положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген Aβ фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 2A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab соланезумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L107N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR соланезумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 2A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к Aβ или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части GSK933776 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 3 и 4, соответственно, см. таблицу 5 и 2B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 73 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи GSK933776) и SEQ ID NO: 74 (кодирующие Fab-часть легкой цепи GSK933776), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для

экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут включать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-Aβ антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGA (SEQ ID NO: 202) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFL (SEQ ID NO: 204) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELAGAPSVFL (SEQ ID NO: 205), как показано на фиг. 2B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 73 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 73). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Ab антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент Aβ, содержащий легкую цепь,

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

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab GSK933776, содержащий тяжелую

цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L110N (тяжелая цепь), Q165N или Q165S (легкая цепь) и/или E200N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-Aβ антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR GSK933776, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 2B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к Aβ или его антигенсвязывающего фрагмента.

Анти-калликреин конструкции и HuPTM mAb и HuPTM Fab подробно описаны в разделе 5.3.18 ниже. Обеспечены трансгены для экспрессии антитела ланаделумаба к калликреину, последовательности которого представлены в таблице 8.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения у субъектов-людей одного или нескольких нарушений сетчатки (таких как диабетическая ретинопатия, mCNV, дегенерация желтого пятна или отек желтого пятна) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-VEGF антитело или антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой севацизумабом или его Fab-фрагмент или любой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с одним или несколькими различными нарушениями сетчатки, перечисленными выше.

Также, обеспечены способы лечения у субъектов-людей одного или нескольких нарушений сетчатки (таких как диабетическая ретинопатия, mCNV, дегенерация желтого пятна или отек желтого пятна) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-EPOR антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой LKA-651 или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента диагностировано и/или имеются симптомы, связанные с одним или несколькими различными нарушениями сетчатки, перечисленными выше.

Дополнительно обеспечены способы лечения субъектов-людей с сухой дегенерацией AMD путем введения вирусного вектора, содержащего трансген,

кодирующий анти-Aβ антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело или его Fab-фрагмент может представлять собой соланезумаб, леканемаб или GSK933776. В вариантах осуществления у пациента диагностирована сухая AMD и/или имеются симптомы, связанные с ней.

Обеспечены способы лечения у субъектов-людей диабетической ретинопатии или диабетического макулярного отека путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело против калликреина или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой ланаделумаб или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента диагностировано и/или имеются симптомы, связанные с одним или несколькими различными нарушениями сетчатки, перечисленными выше. В конкретных вариантах осуществления трансген представляет собой трансген, кодирующий ланаделумаб, указанный в таблице 8.

Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.3. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам сетчатки человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8. Альтернативно, векторы, несущие капсид AAV2.7m8, могут быть использованы для глазных показаний. Рекомбинантные векторы, например, показанные на фиг. 9A-C, 2A-C и 19, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в сетчатку, например, путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.3.

Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на антитело к VEGF, EPOR, Aβ или калликреину. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых было диагностировано одно или несколько заболеваний сетчатки, или у которых один или несколько симптомов связаны с ними, и которые определены как отвечающие на лечение антителом к VEGF, EPOR, Aβ или калликреину, или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к VEGF, EPOR, Aβ или калликреину. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью севацизумаба, LKA-651, соланезумаба, леканемаба, GSK933776 или ланаделумаба, и было обнаружено, что они чувствительны к севацизумабу, LKA-651, соланезумабу, леканемабу, GSK933776 или ланаделумабу. Для определения чувствительности, трансгенный продукт антитела к VEGF, EPOR, Aβ или калликреину,

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

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-VEGF, анти-EPOR, анти-Aβ или анти-калликреин HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или нескольких заболеваний сетчатки, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-VEGF, анти-EPOR, анти-Aβ, анти-калликреин HuPTM Fab, субретинально, интравитреально или супрахориоидально субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов одного или нескольких заболеваний сетчатки, чтобы создать постоянное депо в сетчатке, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным организмом человека, сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемый трансдуцированными клетками сетчатки.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-VEGF, анти-EPOR, анти-Aβ или анти-калликреин HuPTM mAb или HuPTM Fab могут продуцироваться в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом заболевания сетчатки, для кого лечение сетчатки считается целесообразным.

В конкретных вариантах осуществления анти-VEGF HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи севацизумаба, как показано на фиг. 9A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N32 и/или N164 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 31) или N22, N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 32). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи севацизумаба содержит группу сульфатирования в Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 31) и/или Y88, и/или Y89 легкой цепи (SEQ ID NO: 32). В других вариантах осуществления анти-VEGF HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит

обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-EPOR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи LKA-651 (NVS2), как показано на фиг. 9B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям Q109 и/или N159 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 33) или N68 и/или N171 легкой цепи (SEQ ID NO: 34). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей LKA-651 (NVS2) содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 33) и/или Y85, Y86 и/или Y96 легкой цепи (SEQ ID NO: 34). В других вариантах осуществления анти-EPOR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления mAb HuPTM представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-EPOR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи LK-651 (NYS3), как показано на фиг. 9C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N32, N80 и/или N169 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 35) или N68 и/или N171 легкой цепи (SEQ ID NO: 36). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей LKA-651 (NVS3) содержит группу сульфатирования в Y97 и/или Y98 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 35), и/или Y30, Y31, Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 36). В других вариантах

осуществления анти-EPOR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей соланезумаба, как показано на фиг. 2A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N56, Q104 и/или N154 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 1) или Q105, N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 2). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей соланезумаба имеет сульфатную группу в Y94, Y95 и/или Y101 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 1) или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 2). В других вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженных с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых (например, обнаруженные с помощью анализов, известных в данной области, например, описанных в разделе 5.2, ниже) фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb представляет собой полноразмерное mAb с Fc-областью, например, Fc-доменом SEQ ID NO: 283, SEQ ID NO: 284 или SEQ ID NO: 285, или его мутант или вариант.

В конкретных вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи GSK933776, как показано на фиг. 2B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положения N32, Q107 и/или N157 тяжелой цепи

(SEQ ID NO: 3) или N163 и/или N215 легкой цепи (SEQ ID NO: 4). Альтернативно или в дополнение mAb HuPTM или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей GSK933776 содержит группу сульфирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 3) или Y91 и/или Y92 легкой цепи (SEQ ID NO: 4). В других вариантах осуществления анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования заболевания сетчатки и/или подавление ангиогенеза. В случае заболеваний сетчатки эффективность можно контролировать путем наблюдения за остротой зрения. Например, эффективность можно контролировать путем оценки изменения остроты зрения по сравнению с исходным уровнем (см., например, U S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologies Evaluation and Research. Guidance for industry: clinical trial endpoints for the approval of cancer drugs and biologies. https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm071590.pdf. Published May 2007. Accessed October 13, 2017; Oncology Endpoints in a Changing Landscape. Manag. Care. 2016; l(suppl): 1-12).

Комбинации доставки анти-VEGF, анти-EPOR или анти-Aβ HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в сетчатку, сопровождаемую доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения диабетической ретинопатии, mCNV, дегенерации желтого пятна или отека желтого пятна, которые можно комбинировать с генной терапией, представленной в настоящем документе, включают, но без ограничения, лазерную фотокоагуляцию, фотодинамическую терапию вертепорфином, афлиберцепт и/или интравитреальные стероиды, и введение анти-

VEGF, анти-EPOR, анти-Aβ агентами, включая, но без ограничения, севацизумаб, LKA-651 (NVS2), LKA-651 (NVS3), соланезумаб, леканемаб или GSK933776.

5.3.9. Анти-ALK1, анти-C5 и анти-эндоглин HuPTM конструкции и составы для лечения глазных заболеваний

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с киназой-1, подобной рецептору активина (ALK1), компонентом 5 комплемента (C5) или анти-эндоглином (ENG), соответственно, указанных для лечения одного или более глазных заболеваний, включая заболевания сетчатки, вызванные повышенной неоваскуляризацией, например, nAMD (также известная как «влажная» AMD), сухая AMD, окклюзия вены сетчатки (RVO), диабетический макулярный отек (DME), диабетическая ретинопатия (DR) или неинфекционный увеит. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью аскринвакумаба, тезидолумаба, равулизумаба, каротуксимаба или антигенсвязывающего фрагмента одного из указанных выше. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов аскринвакумаба, тезидолумаба, равулизумаба и каротуксимаба представлены на фиг. 10A-D, соответственно. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей ALK1-связывающее, C5-связывающее или ENG-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное, включая scFv) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов глазного расстройства (например, дегенерации желтого пятна или увеита желтого пятна) для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с ALK1, C5 или ENG, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, который связывается с ALK1, C5 или ENG, такой как аскринвакумаб, тезидолумаб,

равулизумаб, каротуксимаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al.).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ALK1 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части аскринвакумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 37 и 38, соответственно, см. таблицу 5 и 10A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 107 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи аскринвакумаба) и SEQ ID NO: 108 (кодирующие Fab-часть легкой цепи аскринвакумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может быть подходящей для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-ALK1 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 37 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ERKCCVECPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 220) или ERKCCVECPPCPA (SEQ ID NO: 221), как показано на фиг. 10A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3’-конце SEQ ID NO: 107 кодирующими

шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 107). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 300 (таблица 7) или Fc-домен IgG2, такой как SEQ ID No. 284 или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ALK1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген ALK1 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 38. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ALK1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген ALK1 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ALK1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 38, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 37. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген ALK1 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10А) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител,

например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген ALK1 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ALK1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab аскринвакумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 37 и 38, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L113N (тяжелая цепь), Q161N или Q161S (легкая цепь) и/или E196N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ALK1 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR аскринвакумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 10A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к ALK1 или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части тезидолумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 39 и 40, соответственно, см. таблицу 5 и 10B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 109 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи тезидолумаба) и SEQ ID NO: 110 (кодирующие Fab-часть легкой цепи тезидолумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для

экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-С5 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 39 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG (SEQ ID NO: 210) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 212) или EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 213), как показано на фиг. 10B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3’-конце SEQ ID NO: 109 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленным в таблице 6 (SEQ ID NO: 109). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 301 (таблица 7), или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-С5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген С5 фрагмент, содержащий легкую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 40. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген C5 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 39. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген C5 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92 %, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 40, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 39. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген C5 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 , 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген C5 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab тезидолумаба, содержащий тяжелую

цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 39 и 40, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L111N (тяжелая цепь) и/или Q196N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR тезидолумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 10B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-C5 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ENG антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части каротуксимаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 41 и 42, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 10). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 111 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи каротуксимаба) и SEQ ID NO: 112 (кодирующие Fab-часть легкой цепи каротуксимаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепи содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на C-конце

последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-ENG антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 41 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 10. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 111 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 111). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 302 (таблица 7), или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ENG антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген ENG фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 42. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ENG антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген ENG фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 41. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ENG антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична

последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 42, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 41. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген ENG фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41 с 1, 2, 3, 4 , 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции, например, выполняются в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген ENG фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ENG антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab каротуксимаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 41 и 42, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T113N (тяжелая цепь), Q159N или Q159S (легкая цепь) и/или E194N (легкая цепь) (см. фиг.20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ENG антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR каротуксимаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 10C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области,

для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-ENG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части равулизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 362 и 363, соответственно, см. таблицу 5 и 10D). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 378 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи равулизумаба) и SEQ ID NO: 379 (кодирующие Fab-часть легкой цепи равулизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в человеческих клетках, в частности, клетках ЦНС человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одну из последовательностей, представленных в таблице 2 выше.

В дополнение к Fab-фрагментам, включая последовательности вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, и C_L и C_H1, трансгены могут содержать на C-конце последовательности C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-C5 антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи и домен C_H1 SEQ ID NO: 362 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ERKCCVECPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 220) или ERKCCVECPPCPA (SEQ ID NO: 221), как показано на фиг. 10D. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 378 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 378). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, содержащие Fc-домен на C-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG2, такой как SEQ ID NO: 393, указанный в таблице 7, SEQ ID No. 284 или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген C5 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 363. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген C5 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 362. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 363, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 362. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген C5 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 362 с 1, 2, 3, 4 , 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10D), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген C5 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 363 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13. , 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10D), или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab равулизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 362 и 363, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L117N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR равулизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 10D, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-C5-антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от одного или более глазных заболеваний путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-ENG, анти-C5 или анти-ALK1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело или его Fab-фрагмент может представлять собой аскринвакумаб, тезидолумаб, равулизумаб или каротуксимаб. В вариантах осуществления у пациента были диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с одним или более из различных глазных нарушений, перечисленных выше. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.3. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам сетчатки человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8. В качестве альтернативы векторы, несущие капсид AAV2.7m8 или AAV9, можно использовать для глазных нарушений. Рекомбинантные векторы, например, показанные на фиг. 10A-D, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в сетчатку, например, путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.3.

Субъекты, у которых проводят такую генную терапию, могут быть теми субъектами, которые отвечают на анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых было диагностировано одно или более нарушений сетчатки, или, в случае

анти-C5 антитела, неинфекционный увеит, или которые имеют один или более связанных с ними симптомов, и идентифицированы как чувствительные к лечению анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG антителом, или считаются хорошими кандидатами для терапии анти-ALK1, анти-C5, или анти-ENG антителом. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению аскринвакумабом, тезидолумабом, равулизумабом или каротуксимабом, и было обнаружено, что они чувствительны к аскринвакумабу, тезидолумабу, равулизумабу или каротуксимабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG антитела или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или нескольких нарушений сетчатки, или, в случае тех, которые происходят из анти-C5 для лечения неинфекционного увеита, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG HuPTM Fab, субретинально, интравитреально или супрахориоидально субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов одного или более из нарушений сетчатки или неинфекционного увеита, для создания постоянного депо в сетчатке, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками сетчатки.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG HuPTM mAb или HuPTM Fab можно продуцировать в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводить пациентам с диагнозом нарушения сетчатки или глаза, для которого терапия нарушения сетчатки или глаза считается целесообразным.

В конкретных вариантах осуществления анти-ALK1 HuPTM mAb или его антиген-связывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей аскринвакумаба, как показано на фиг. 10A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по

аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N62, N78, Q110, N160, N193 и/или N202 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 37) или Q101, N159 и/или N211 легкой цепи (SEQ ID NO: 38). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей аскринвакумаба содержит группу сульфатирования в Y95, Y96 и/или Y199 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 37) и/или Y87 и/или Y88 легкой цепи (SEQ ID NO: 38). В других вариантах осуществления анти-ALK1 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-C5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи тезидолумаба, как показано на фиг. 10B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N59, Q108 и/или N158 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 39) или N68, N95 и/или N172 легкой цепи (SEQ ID NO: 40). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей тезидолумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 39) и/или Y30, Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 40). В других вариантах осуществления анти-C5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-C5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей равулизумаба, как показано

на фиг. 10D (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N63, N106, Q114, N164, N197 и/или N206 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 362) или N28, Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 363). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей равулизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 362) и/или Y86 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 363). В других вариантах осуществления анти-C5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах реализации HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-ENG HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей каротуксимаба, как показано на фиг. 10C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q110 и/или N160 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 41) или N52, N93, N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 42). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей каротуксимаба содержит группу сульфатирования в Y95 и/или Y96 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 41) и/или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 42). В других вариантах осуществления анти-ENG HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован

и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования глазного нарушения. В случае заболеваний сетчатки эффективность можно контролировать путем наблюдения за остротой зрения. Например, эффективность можно контролировать, оценивая изменение остроты зрения. В случае увеита эффективность можно контролировать, наблюдая за остротой зрения, покраснением глаз, чувствительностью к свету и/или болью в глазах. Например, эффективность можно контролировать, оценивая изменение остроты зрения, покраснение глаза, чувствительность к свету и/или боль в глазах от исходного уровня.

Комбинации доставки анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в сетчатку, сопровождаемую доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, обеспеченными в настоящем документе. Дополнительные способы лечения могут назначаться до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения дегенерации желтого пятна, которые можно сочетать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, лазерную фотокоагуляцию, фотодинамическую терапию вертепорфмом, афлиберцепт, анти-VEGF агенты и/или интравитреальные стероиды, а также введение с анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG агентами, включая, но без ограничения, аскринвакумаб, тезидолумаб, равулизумаб или каротуксимаб. В случае увеита доступные способы лечения субъекта, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, азатиоприн, метотрексат, микофенолата мофетил, циклоспорин, циклофосфамид, кортикостероиды (местные и/или системные) и другие, и введение с анти-ALK1, анти-C5 или анти-ENG агентами, включая, но без ограничения, аскринвакумаб, тезидолумаб, равулизумаб или каротуксимаб.

5.3.10. Анти-CC1Q HuPTM конструкции и составы для лечения глаукомы

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с компонентом 1Q комплемента (CC1Q), применимым для лечения глаукомы. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb содержит аминокислотную последовательность ANX-007 или антигенсвязывающий фрагмент вышеперечисленного. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов ANX-007 представлены на фиг. 11. Доставка может быть осуществлена посредством генной

терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей CC1Q-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое производное, включая scFv) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов глаукомы, для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с CC1Q, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с CC1Q, такого как ANX-007, или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-CC1Q антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al.).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CCIQ антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части ANX-007 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 43 и 44, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 11). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 113 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи ANX-007) и SEQ ID NO: 114 (кодирующие Fab-часть легкой цепи ANX-007), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку.

Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-CC1Q антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 43 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 11. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 113 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 113). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283 или показанный на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CC1Q антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CC1Q фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 44. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CC1Q антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CC1Q фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 43. В некоторых

вариантах осуществления трансген анти-CC1Q антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 44, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 43. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CC1Q фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 11) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CC1Q фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 11) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CC1Q антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab ANX-007, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 43 и 44, соответственно, с одной или более из следующих мутации: T116N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CC1Q антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ANX-007, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 11, которые расположены между каркасными областями, как правило,

человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-CC1Q-антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от глаукомы путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-CC1Q антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело или его Fab-фрагмент может представлять собой ANX-007. Согласно вариантам осуществления у пациента были диагностированы и/или имеются симптомы, связанные с одним или более из различных нарушений сетчатки, перечисленных выше. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.3. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам сетчатки человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8. Альтернативно, векторы, несущие капсид AAV2.7m8 или AAV9, могут быть использованы для лечения глазных нарушений. Рекомбинантные векторы, например, показанные на фиг. 11, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в сетчатку, например, путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.3.

Субъекты, которым назначается такая генная терапия, могут быть теми, кто реагирует на анти-CC1Q терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых была диагностирована глаукома или у которых имеется один или более связанных с ней симптомов, которые идентифицированы как чувствительные к лечению антителом к CC1Q или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к CC1Q. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению ANX-007, и было обнаружено, что они чувствительны к ANX-007. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к CC1Q или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-CC1Q HuPTM mAb или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или более заболеваний сетчатки, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем

введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-CC1Q HuPTM Fab, субретинально, интравитреально или супрахориоидально субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов глаукомы, для создания постоянного депо в сетчатке, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками сетчатки.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения анти-CC1Q HuPTM mAb или HuPTM Fab могут быть продуцированы в линиях клеток человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводиться пациентам с диагнозом глаукома или для которых терапия глаукомы считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления анти-CC1Q HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент имеет тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи ANX-007, как показано на фиг. 11 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N59, Q113 и/или N163 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 43) или N22, N30, Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 44). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи ANX-007 содержит группу сульфатирования в Y60, Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 43) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 44). В других вариантах осуществления анти-CC1Q HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в

настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования глаукомы. В случае глаукомы эффективность можно контролировать путем мониторинга остроты зрения, боли в глазах или внутриглазного давления (ВГД). Например, эффективность можно контролировать, оценивая изменение ВГД, остроты зрения и боли по сравнению с исходным уровнем.

Комбинации доставки анти-CC1Q HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в сетчатку, сопровождаемой доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения глаукомы, которые можно комбинировать с генной терапией, описанной в настоящем документе, включают, но без ограничения, простагландины (XALATAN®, LUMIGAN®, TRAVATAN Z® и RESCULA®), альфа-андронергические агонисты (IOPIDINE®, ALPHAGAN® и ALPHAGAN-P®), ингибиторы карбоангидразы (TRUSOPT®, AZOPT®, DIAMOX®, NEPTAZANE® и DARANIDE®), парасимпатомиметики (PILOCARPINE®, CARBACHOL®, ECHOTHIOPHATE®, DEMACARIUM®) и/или бета-блокатор (TIMOPTIC XE®, ISTALOL®, BETOPTIC S®) и введение с агентами против CC1Q, включая, но без ограничения, ANX-007.

5.3.11. Анти-TNFα HuPTM конструкции и составы для лечения неинфекционного увеита

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с фактором некроза опухоли-альфа (TNFα), таким как адалимумаб (фиг. 12A), инфликсимаб (фиг. 12B) или голимумаб (фиг. 12C) и показаны для лечения неинфекционного увеита. В некоторых вариантах осуществления HuPTM содержитимеет аминокислотную последовательность адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба или их антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов антитела представлены на фиг. 12A-C. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей TNFα-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или его гипергликозилированное производное или другое производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов неинфекционного увеита, для создания постоянного депо, которое непрерывно

снабжает человека PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с TNFα, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с TNFα, такие как адалимумаб, инфликсимаб, голимумаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-TNFα антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al.).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части адалимумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 45 и 46, соответственно, см. таблицу 5 и 12A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 115 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи адалимумаба) и SEQ ID NO: 116 (кодирующие Fab-часть легкой цепи адалимумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-TNFα антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 45 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 12A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 115 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 115). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 303 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент TNFα, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 46. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент TNFα, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 45. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует

антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86 %, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 46, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 45. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TNFα фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасной области (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 12A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TNFα фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 12A) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab адалимумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 45 и 46, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L116N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR адалимумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 12A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в

зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-TNFα антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части инфликсимаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 47 и 48, соответственно, см. таблицу 5 и 12B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 117 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи инфликсимаба) и SEQ ID NO: 118 (кодирующие Fab-часть легкой цепи инфликсимаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что представлены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-TNFα антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 47 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или

EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 12B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 117 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 117). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существе полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 304 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент TNFα, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 48. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент TNFα, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86 %, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 48, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47. В конкретных вариантах осуществления анти-TNFα антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции, например, выполняются в каркасных

областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 12B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления анти-TNFα антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13. , 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 12B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab инфликсимаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 47 и 48, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T115N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 11A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR инфликсимаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 12B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-TNFα антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части голимумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 49 и 50, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 12C). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 119 (кодирующие

Fab-часть тяжелой цепи голимумаба) и SEQ ID NO: 120 (кодирующие Fab-часть легкой цепи голимумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые представлены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-TNFα антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 49 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 12С. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3’-конце SEQ ID NO: 119 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 119). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 305 (таблица 7), или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или

несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент TNFα, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент TNFα, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 49. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 50, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 49. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TNFα фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 12C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TNFα фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 12C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом

положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab голимумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 49 и 50, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T124N (тяжелая цепь), Q164N или Q164S (легкая цепь) и/или E199N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR голимумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 12C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-TNFα антитело или его антигенсвязывающего фрагмента.

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от неинфекционного увеита путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к TNFα или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб и представляет собой, например, полноразмерное или по существу полноразмерное антитело, или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента диагностирован и/или имеются симптом(ы) неинфекционного увеита. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.3. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам сетчатки человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8. Альтернативно, векторы, несущие капсид AAV2.7m8 или AAV9, могут использоваться для лечения глазных нарушений. Рекомбинантные векторы, например, представленные на фиг. 12A-C, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в сетчатку, например, путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Подробную информацию о методах лечения см. в разделе 5.5.3.

Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-TNFα терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был диагностирован неинфекционный увеит

или у которых один или несколько симптомов связаны с ним, и которые определены как отвечающие на лечение антителом к TNFα или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к TNFα. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью адалимумаба, инфликсимаба или голимумаба, и было обнаружено, что они чувствительны к адалимумабу, инфликсимабу или голимумабу. В других вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью анти-TNF-альфа антитела или слитого белка, такого как этанерцепт, цертолизумаб или другой анти-TNF-альфа агент. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к TNFα или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-TNFα HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения неинфекционного увеита, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-TNFα HuPTM Fab, внутривенно субъектам-людям (пациентам), у которых диагностирован или имеется один или больше симптомов неинфекционного увеита, чтобы создать постоянное депо в сетчатке, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным организмом человека, сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемым трансдуцированными клетками печени или мышц.

В конкретных вариантах осуществления анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей адалимумаба, как показано на фиг. 12A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений) характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N54, Q113 и/или N163 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 45) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 46). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей адалимумаба содержит группу сульфатирования в Y32, Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO:

45) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 46). В других вариантах осуществления анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепи инфликсимаба, как показано на фиг. 12B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N57, N101, Q112 и/или N162 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 47) или N41, N76, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 48). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи инфликсимаба содержит группу сульфатирования в Y96 и/или Y97 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 47) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 48). В других вариантах осуществления анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей голимумаба, как показано на фиг. 12C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N80, Q121 и/или N171 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 49) или N162 и/или N214 легкой цепи (SEQ ID NO: 50). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент

с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи голимумаба содержит группу сульфатирования в Y112, Y113 и/или Y114 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 49) и/или Y89 и/или Y90 легкой цепи (SEQ ID NO: 50). В других вариантах осуществления анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования или облегчение одного или нескольких симптомов неинфекционного увеита, например, снижение уровня боли, покраснения глаз, чувствительности к свету и/или другого дискомфорта для пациента. Эффективность может контролироваться путем измерения уменьшения боли, покраснения глаз и/или светобоязни и/или улучшения зрения.

Комбинации доставки анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцы, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения субъекта с неинфекционным увеитом, которые можно сочетать с генной терапией, предусмотренной в настоящем документе, включают, но без ограничения, азатиоприн, метотрексат, микофенолат мофетил, циклоспорин, циклофосфамид, кортикостероиды (местные и/или системные) и другие, а также введение с анти-TNFα агентами, включая, но без ограничения, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб.

5.3.12. Анти-RGMa HuPTM конструкции и составы для лечения рассеянного склероза

Описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с направляющей отталкивающей молекулой-A (RGMa) и показаны для лечения рассеянного склероза (MS). В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью елезанумаба или его

антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагментов елезанумаба представлена на фиг. 13. Доставка может быть осуществлена посредством генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей RGMa-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов рассеянного склероза для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

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

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-RGMa антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части елезанумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 51 и 52, соответственно, см. таблицу 5 и 13). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 121 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи элезанумаба) и SEQ ID NO: 122 (кодирующие Fab-часть легкой цепи елезанумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью,

выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также C_H1 и C_L, трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-интегрин антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 51 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG (SEQ ID NO: 210) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 212) или EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 213), как показано на фиг. 13. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 121 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 121). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-интегрин антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген RGMa фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-RGMa антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген интегрин фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%

идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 51. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-RGMa антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 52, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 51. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген RGMa фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 , 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 13) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген интегрин фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 13) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-RGMa антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab елезанумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 51 и 52, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L115N (тяжелая цепь) и/или Q197N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-RGMa антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR елезанумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на

фиг. 13, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-RGMa антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 72), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 73) или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 74); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-RGMa mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышц человека.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей с MS путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-RGMa антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антителом может являться эленазумаб и представляет собой, например, полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента был диагностирован и/или имеются симптомы, связанные с MS. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделах 5.4.1 и 5.4.2. В некоторых вариантах осуществления такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени человека и могут включать нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 13, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в печень или мышечную ткань, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. См. 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения. В других вариантах осуществления такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать не реплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантный вектор, такой как показан на фиг. 13, может быть введен любым способом, так что рекомбинантный вектор входит в ЦНС, например, путем введения рекомбинантного

вектора в спинномозговую жидкость (CSF). Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.1.

Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-RGMa терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был диагностирован MS или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к RGMa или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к RGMa. В конкретных вариантах осуществления пациентов ранее подвергали лечению элезанумабом, и было обнаружено, что они отвечают на элезанумаб. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к RGMa или антигенсвязывающий фрагмент (например, продуцируемый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-RGMa HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения рассеянного склероза, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей HuPTM Fab к RGMa, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам), которым поставлен диагноз или имеется один или более симптомов MS, для создания постоянного депо в печени, мышцах или ткани ЦНС, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, таким как гликозилированным человеком, сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемый трансдуцированными клетками печени, мышц или ЦНС.

Конструкция кДНК для HuPTM mAb к RGMa или анти-RGMa HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени или мышц. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблицах 2, 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым клетками ЦНС, миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-RGMa HuPTM mAb или HuPTM Fab можно продуцировать в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводить пациентам с диагнозом MS, или для которых терапия для MS считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления анти-RGMa HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей елезанумаба, как показано на фиг. 13 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности 2,6-сиалированием, по одному или более аминокислотным положениям N57, Q112 и/или N162 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 51) или N71 и/или N173 легкой цепи (SEQ ID NO: 52). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи елезанумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 51) и/или Y88 и/или Y89 легкой цепи (SEQ ID NO: 52). В других вариантах осуществления анти-RGMa HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективными и гликозилиров и/или сульфатирован по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5, 10 или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Цель генной терапии, представленной в настоящем документе, заключается в том, чтобы замедлить или остановить прогрессирование рассеянного склероза, в частности уменьшение боли и дискомфорта для пациента и/или улучшение подвижности. Эффективность может контролироваться путем оценки симптомов или степени воспаления в пораженной ткани. Например, в отношении рассеянного склероза, эффективность можно контролировать, оценивая частоту рецидивов (например, годовой показатель рецидивов), статус физической инвалидности (например, степень инвалидизации по расширенной шкале инвалидности Куртцке (EDSS)) и биологические маркеры, включая сканирование головного мозга с использованием МРТ (например, оценка T1-взвешенных контрастируемых гадолинием

(Gd) поражений и T2-гиперинтенсивных поражений с помощью магнитно-резонансной томографии).

Комбинации доставки анти-RGMa HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС, печень или мышцы, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно вводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения рассеянного склероза, которые можно сочетать с генной терапией, описанной в настоящем документе, включают, но без ограничения, бета-интерферон, бета-интерферон 1a, глатирамера ацетат, циклофосфамид, кортикостероиды, иммуномодуляторы (например, азатиоприн, 6-меркаптопурин и/или метотрексат) и митоксантрон и введение с анти-RGMa агентами, включая, но без ограничения, эленазумаб.

5.3.13 Анти-TTR HuPTM конструкции и составы для амилоидоза

Описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с транстиретином (TTR), в частности, неправильно свернутым или патогенным TTR, показанным для лечения транстиретинового амилоидоза (ATTR) семейного или дикого типа, семейной амилоидной кардиомиопатии (FAC) и/или семейной амилоидной полинейропатии (FAP). В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb содержит аминокислотную последовательность NI-301 или PRX-004, или их антигенсвязывающий фрагмент. Аминокислотная последовательность Fab-фрагментов NI-301 и PRX-004 представлена на фиг. 14A и 14B, соответственно. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей TTR-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное, или другое производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или нескольких симптомов амилоидоза, FAP и/или FAC для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с TTR, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой

нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с TTR, например, NI-301, PRX-004 или их вариантами, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-TTR антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al.).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части NI-301 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 53 и 54, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 14A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 123 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи NI-301) и SEQ ID NO: 124 (кодирующие Fab-часть легкой цепи NI-301), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-TTR антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 53 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 14A.

Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 123 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 123). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283 или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

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

терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TTR фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13. , 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 14A.) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab NI-301, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 53 и 54, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: M115N (тяжелая цепь), Q159N или Q159S (легкая цепь) и/или E194N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR NI-301, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 14A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к TTR или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части PRX-004 (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 55 и 56, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 14B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 125 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи PRX-004) и SEQ ID NO: 126 (кодирующие Fab-часть легкой цепи PRX-004), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат на N-конце сигнальную или лидерную последовательность, подходящую для экспрессии и

секреции в клетках человека, в частности, клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-TTR антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 55 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 14B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 125 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 125). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 307 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген TTR фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 56. В

некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген TTR фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 56, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 55. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TTR фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55 с 1, 2, 3, 4 , 5, 6, 7, 8, 駚 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 14B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TTR фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 14B) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab PRX-004, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 55 и 56, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: L112N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S

(легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TTR антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR PRX-004, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 14B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к TTR или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от ATTR, FAT или FAC путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-TTR антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой NI-301, PRX-004 и представляет собой, например, полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента было диагностировано и/или имеются симптомы, связанные с ATTR, FAC или FAT.

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от ATTR, FAC и FAT путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-TTR антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой NI-301 или PRX-004 и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или его другой антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента было диагностировано заболевание и/или симптомы, связанные с ATTR, FAT или FAC. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделах 5.4.1 и 5.4.2. В некоторых вариантах осуществления такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени человека и могут включать нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 14A и 14B, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень или мышечную ткань, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. См. 5.5.2 для получения подробной информации о способах лечения. В других вариантах осуществления такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ЦНС человека и могут включать

нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Рекомбинантный вектор, такой как показанный на фиг. 14A и 14B, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, например, путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). Подробную информацию о методах лечения см. в разделе 5.5.1.

Субъектами, которым вводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-TTR терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был поставлен диагноз ATTR, FAP или FAC, или у которых один или более симптомов связаны с ними, и которые определены как отвечающие на лечение антителом к TTR или считаются хорошими кандидатами на терапию антителом к TTR. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению PRX-004 или NI-301, и было обнаружено, что они чувствительны к PRX-004 или NI-301. Для определения чувствительности трансгенный продукт анти-TTR или антигенсвязывающего фрагмента (например, полученный в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-TTR HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения ATTR, FAC или FAP, осуществляемой с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-TTR HuPTM Fab, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом ATTR, FAC или FAP для создания постоянного депо в мышечной ткани или печени, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками мышц или печени.

Конструкция кДНК для анти-TTR HuPTM mAb или анти-TTR HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками мышцы или печени. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранную из любой из сигнальных

последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым клетками мышц или печени, соответственно.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-TTR HuPTM mAb или HuPTM Fab могут быть продуцированы в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и введены пациентам с диагнозом ATTR, FAP или FAC, если это считается целесообразным.

В конкретных вариантах осуществления анти-TTR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей NI-301, как показано на фиг. 14A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N58, N78, N83, Q112 и/или N161 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 53) или Q99, N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 54). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей NI-301 содержит группу сульфатирования в Y95 и/или Y96 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 53) и/или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 54). В других вариантах осуществления анти-TTR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-TTR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей PRX-004, как показано на фиг. 14B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям N76, Q109 и/или N159 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 55) или N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 56). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей PRX-004

содержит группу сульфатирования в Y93 и/или Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 55) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 56). В других вариантах осуществления анти-TTR HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по-существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab являются терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилированы и/или сульфатированы и могут быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилированы и/или сульфатированы. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования заболевания, подвергаемого лечению, или облегчение одного или нескольких его симптомов. В случае ATTR эффективность можно контролировать, оценивая одну или несколько конечных точек амилоидоза, в том числе путем измерения прогрессирования поражения органов, количества отложений в тканях амилоидных фибрилл и/или улучшения функции органов (то есть почек и печени).

Комбинации доставки анти-TTR HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в мышцу или печень, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно вводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения ATTR, которые можно комбинировать с генной терапией, представленной в настоящем документе, включают, но без ограничения, химиотерапевтический агент(ы) (например, алкилирующие агенты, антиметаболиты, ингибиторы топоизомеразы и митотические ингибиторы), леналидомид (REVLIMID®), помалидомид (POMALYST ®), талидомид (SYNOVIR®), дараумумаб (DARZALEX®), элотузумаб (EMPLICITI®), бортезомиб (VELCADE®), иксазомиб (NINLARO®) и/или карфилзомиб (KYPROLIS®), и введение анти-TTR агентов, включая, но без ограничения, NI-301 и PRX-004.

5.3.14 Анти-CTGF HuPTM конструкции и составы для лечения фиброзных заболеваний

Описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с фактором роста соединительной ткани (CTGF), показанным для лечения одного или нескольких фиброзных нарушений, включая фиброз легких, муковисцидоз (CF),

идиопатический фиброз легких (IPF), цирроз печени, фиброз предсердий, эндомиокардиальный фиброз, старый инфаркт миокарда, артрофиброз, болезнь Крона, фиброз средостения, миелофиброз (MF), нефрогенный системный фиброз (NSF), прогрессирующий массивный фиброз PMF, забрюшинный фиброз (RPF). В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb содержит аминокислотную последовательность памревлумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагментов памревлумаба представлена на фиг. 15. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей CTGF-связывающее HuPTM mAb (или антигенсвязывающий фрагмент и/или его гипергликозилированное производное или другое производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов фиброзного нарушения для создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный организмом человека, трансгенный продукт.

Трансгены

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

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CTGF антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части памревлумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 57 и 58, соответственно, см. таблицу 5 и 15). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 127 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи памревлумаба) и SEQ ID NO: 128 (кодирующие Fab-часть легкой цепи памревлумаба), как указано в таблице 6. В случае лечения фиброзных нарушений

последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-CTGF антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 57 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPK.SCDKTHTCPPCPAPEAAGG (SEQ ID NO: 210) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 212) или EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGGPSVFL (SEQ ID NO: 213), как показано на фиг. 15. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 127 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 127). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 308 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как показано на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CTGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CTGF фрагмент,

содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 58. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CTGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CTGF фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CTGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 58, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 57. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CTGF фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 15) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CTGF фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 15) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CTGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab

памревлумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 57 и 58, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L111N (тяжелая цепь) и/или Q196N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CTGF антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR памревлумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 15, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к CTGF или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от одного или нескольких фиброзных нарушений (например, IPF) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-CTGF антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой памревлумаб, и, например, может представлять собой полноразмерное или по существу полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент, или его другой антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента было диагностировано одно или несколько фиброзных нарушений и/или у него имеются симптомы, связанные с ними. Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.3. Для доставки в печень рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени человека и могут включать нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 15, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.2.

Субъектами, которым вводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-CTGF терапию. В некоторых вариантах осуществления способы включают лечение пациентов, у которых было диагностировано одно или более фиброзных нарушений, или у которых один или более симптомов связаны с ними, и которые определены как отвечающие на лечение антителом к CTGF или считаются

хорошими кандидатами на терапию антителом к CTGF. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению памревлумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к памревлумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к CTGF или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-CTGF HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или более фиброзных нарушений, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-CTGF HuPTM Fab, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам), у которых диагностировано одно или более фиброзных нарушений, чтобы создать постоянное депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками печени или мышцы.

Конструкция кДНК для анти-CTGF HuPTM mAb или анти-CTGF HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками мышц или печени. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым клетками мышц или печени, соответственно.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения анти-CTGF HuPTM mAb или HuPTM Fab могут быть продуцированы в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантных ДНК и введены пациентам с диагнозом фиброзного нарушения, для которых терапия фиброзного нарушения считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления анти-CTGF HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными

последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей памревлумаба, как показано на фиг. 15 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N59, Q108 и/или N158 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 57) или N68, N95 и/или N172 легкой цепи (SEQ ID NO: 58). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей памревлумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 57) и/или Y30, Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 58). В других вариантах осуществления анти-CTGF HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab являются терапевтически эффективными и гликозилированы и/или сульфатированы по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% и могут быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилированы и/или сульфатированы. Целью генной терапии, обеспеченно в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования заболевания, которое подвергают лечению, или облегчение одного или более его симптомов. В случае CF эффективность можно контролировать, оценивая объем форсированного выдоха за 1 сек (FEV1), снижение частоты легочных обострений, улучшение качества жизни (QoL) и, для более молодых пациентов, улучшение роста (например, см. VanDevanter and Konstan,“Outcome measurement for clinical trials assessing treatment of cystic fibrosis lung disease,” Clin. Investig. 2(2): 163-175 (2012)). В случае легочного фиброза эффективность можно контролировать, оценивая жизненную емкость легких (LVC), десатурацию при физической нагрузке и диффузионную способность легких по монооксиду углерода (DLCO). В случае IPF эффективность можно контролировать путем оценки уровня одышки, FVC, DLCO, десатурации во время теста с 6-минутной ходьбой, степени «пчелиных сот» на компьютерной томографии высокого разрешения (HRCT), или присутствия легочной гипертензии или эмфиземы. В случае цирроза печени эффективность можно контролировать путем

оценки градиента венозного давления в печени (HVPG) и стадии фиброза печени. В случае фиброза предсердий эффективность можно контролировать путем локализации и количественной оценки степени структурного ремоделирования (SRM) и/или фиброза в предсердии с помощью МРТ с отсроченным контрастным усилением (DE-MRI). В случае эндомиокардиального фиброза эффективность можно контролировать путем оценки фиброзных поражений внутренней оболочки полостей сердца. В случае артрофиброза эффективность можно контролировать путем оценки степени поражения фиброзом пораженного сустава (например, МРТ). В случае болезни Крона эффективность можно контролировать путем оценки уровня серологических маркеров (например, фибронектина, CRP, bFGF, ASCA) и/или степени фиброзных поражений с использованием передовых технологий визуализации. В случае фиброза средостения эффективность можно контролировать путем оценки наличия и/или степени фиброза, полиморфных воспалительных инфильтратов и флебита с помощью КТ с контрастированием. В случае миелофиброза эффективность можно контролировать путем оценки изменений уровня воспалительных цитокинов в сыворотке крови, показателей крови (PLT, WBC, RBC), степени фиброза (ретикулин и коллаген) в костном мозге, размера селезенки и/или конституциональных симптомов по сравнению с исходным уровнем. В случае нефрогенного системного фиброза эффективность можно контролировать путем оценки изменений скорости клубочковой фильтрации (GFR) по сравнению с исходным уровнем, количественной оценки фиброзной и/или потемневшей кожи, и/или уменьшения жжения, зуда и/или сильной резкой боли в пораженных участках. В случае прогрессирующего массивного фиброза эффективность можно контролировать по улучшению легочной функции и/или уменьшению размера конгломератов плотного фиброза в легких. В случае забрюшинного фиброза эффективность можно контролировать путем оценки уменьшения боли в нижней части спины и/или живота, улучшения анемии, аномального изменения цвета кожи и/или качества жизни.

Комбинации доставки анти-CTGF HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в мышцу или печень, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения CF, которые можно комбинировать с генной терапией, представленной в настоящем документе, включают, но без ограничения, антибиотики, вакцины и лекарства от кашля (например, ацетилцистеин и

дорназа альфа) и введение с анти-CTGF, включая, но без ограничения, памревлумаб. Доступные способы лечения IPF, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, кислородную терапию, легочную реабилитацию, нинтеданиб (OFEV®), пирфенидон (ESBRIET®, PIRFENEX®, PIRESPA®), кортикостероиды (преднизон), микофенолат мофетил/ микофеноловая кислота (CELLCEPT®) и азатиоприн (IMURAN®), и введение с анти-CTGF, включая, но без ограничения, памревлумаб. Доступные способы лечения цирроза, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, диуретики (например, спиронолактон, метолазон и фуросемид), восстановитель аммиака, бета-блокатор, синтетические гормоны (например, октеотрид), антибиотики и противовирусные препараты. Доступные способы лечения фиброза предсердий, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, физическую абляцию, бета-блокаторы, препараты для разжижения крови, блокаторы кальциевых каналов, кортикостероиды (например, преднизон), нестероидные противовоспалительные препараты и антиаритмические средства (дигоксин). Доступные способы лечения эндомиокардиального фиброза, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, хирургическое вмешательство, антикоагулянты, ингибиторы АПФ, кортикостероиды (например, преднизон), нестероидные противовоспалительные препараты, диуретики (например, спиронолактон, метолазон и фуросемид) или другие противовоспалительные и антиаритмические средства (дигоксин). Доступные способы лечения старого инфаркта миокарда, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, бета-блокаторы, препараты для разжижения крови, статины, нитроглицерин и ингибиторы АПФ. Доступные способы лечения артрофиброза, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, хирургическое вмешательство, физиотерапию, инъекции кортикостероидов, нестероидные противовоспалительные препараты и криотерапию. Доступные способы лечения болезни Крона, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, витамин D, противовоспалительные средства, нестероидные противовоспалительные средства, кортикостероиды, иммунодепрессанты (например, Remicade®, адалимумаб, метотрексат, меркаптопурин или азатиоприн) и антибиотики.

Доступные способы лечения фиброза средостения, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, тамоксифен, противовоспалительные средства, нестероидные противовоспалительные средства (например, индоцин), кортикостероиды, иммунодепрессанты (например, Remicade®, адалимумаб, метотрексат, меркаптопурин или азатиоприн). Доступные способы лечения MF, которые можно комбинировать с генной терапией, оеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, руксолитиниб, талидомид, андрогенную терапию, переливание крови, химиотерапевтические препараты и лучевую терапию селезенки. Доступные способы лечения NSF, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, кислородную терапию и бронходилататоры. Доступные способы лечения RPF, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, кортикостероиды, иммунодепрессанты (например, микофенолат мофетил, метотрексат, азатиоприн или циклофосфамид и тамоксифен).

5.3.15. Анти-IL6R, анти-IL6 и анти-CD19 HuPTM конструкции и составы для NMO и неинфекционного увеита, и вредного иммунного ответа

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с рецептором интерлейкина-6 (IL6R), интерлейкином-6 (IL6) или кластером дифференцировки 19 (CD19), происходящих из анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 антитела, такого как сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб или инебилизумаб (фиг. 16A-I), показанных для лечения неинфекционного увеита, оптического нейромиелита (NMO), диабетической ретинопатии (DR) или диабетического макулярного отека (DME). Также описаны композиции и способы доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с рецептором интерлейкина-6 (IL6R) или интерлейкином-6 (IL6), происходящих из анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 антитела, такого как сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, симкумаб, олокизумаб или герилимзумаб (фиг. 16A-H), показанных для лечения, ингибирования или ослабления вредного иммунного ответа, такого как воспаление, синдром высвобождения цитокинов и т.п., связанных с вирусной или бактериальной инфекцией, или введением иммуностимулирующего терапевтического средства, такого как иммуноонкологическое антитело, терапия на основе белков или

клеток, такая как терапия CAR-T. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb имеет аминокислотную последовательность сатрализумаба, сарилумаба, тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилимзумаба, инебилизумаба или их антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов антитела представлены на фиг. 16A-I. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей IL6R-связывающее, IL6-связывающее или CD19-связывающее HuPTM mAb (или антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное, или другое его производное) пациентам (субъектам-людям), у которых диагностирован один или несколько симптомов неинфекционного увеита, NMO, DR или DME, или, альтернативно, которые нуждаются в лечении, подавлении или ослаблении вредного иммунного ответа, для создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный организмом человека, трансгенный продукт.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с IL6R, IL6 или CD19, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с IL6R, IL6 или CD19, например, сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб или инебилимзумаб, их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-IL6R, IL6 или анти-CD19 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части сатрализумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 59 и 60, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 16A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут,

например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 129 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи сатрализумаба) и SEQ ID NO: 130 (кодирующие Fab-часть легкой цепи сатрализумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL6R антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 59 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ERKSCVECPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 433) или ERKSCVECPPCPA (SEQ ID NO: 434), как показано на фиг. 16А. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 129, кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 129). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 309 (таблица 7) или Fc-домен IgG2, такой как SEQ ID NO: 284, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6R фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент IL6R, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 59. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 60, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 59. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6R фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасной области (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16A), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6R фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16A), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab сатрализумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 59 и 60, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: L114N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR сатрализумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 16A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-IL6R антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части сарилумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 61 и 62, соответственно, см. таблицу 5 и 16B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 131 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи сарилумаба) и SEQ ID NO: 132 (кодирующие Fab-часть легкой цепи сарилумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в

мышечных клетках или клетках печени, таких как те, что перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL6R антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 61 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 16B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 131 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 131). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 310 (Таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген фрагмент IL6R, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 62. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6R фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%

идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 61. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID. NO: 62, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ. ID NO: 61. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6R фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которых подчеркнуты на фиг. 16B), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6R фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16B), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab сарилумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 61 и 62, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: M111N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR сарилумаба, которые

подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 16B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-IL6R антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части тоцилизумаба (с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO. 341 и 342, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 16H). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 353 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи тоцилизумаба) и SEQ ID NO: 354 (кодирующие Fab-часть легкой цепи тоцилизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, указанных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут включать на C-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL6R антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 341 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательность EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ

ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 16H. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 353 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 353). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 359 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6R фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 342. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6R фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 341. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 342, и тяжелую цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 341. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6R фрагмент содержит тяжелую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 341 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16H) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6R фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 342 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16H), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab тоцилизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 341 и 342, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: L115N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR тоцилизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 16H, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-IL6R антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части силтуксимаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 331 и 332, соответственно, см. таблицу 5 и 16C). Нуклеотидные

последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 343 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи силтуксимаба) и SEQ ID NO: 344 (кодирующие Fab-часть легкой цепи силтуксимаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 331 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 16С. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3’-конце SEQ ID NO: 343 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленным в таблице 6 (SEQ ID NO: 343). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 355 (таблица 7) или Fc-домен IgG1,

такой как SEQ ID No. 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 332. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 331. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 332, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 331. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 331 с 1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 332 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех

областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16C), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab силтуксимаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 331 и 332, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: S114N (тяжелая цепь), Q159N или Q159S (легкая цепь) и/или El 94N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR силтуксимаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 16C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-IL6 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части клазакизумаба (с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO. 333 и 334, соответственно, см. таблицу 5 и 16D). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 345 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи клазакизумаба) и SEQ ID NO: 346 (кодирующие Fab-часть легкой цепи клазакизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют

белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 333 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотную последовательность EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 16D. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 345 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 345). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 356 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 334. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%,

86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 333. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID. NO: 334, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 333. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 333 с 1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16D), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 334 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16D), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab клазакизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 333 и 334, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: L115N (тяжелая цепь), Q163N или Q163S (легкая цепь) и/или E198N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR клазакизумаба, которые подчеркнуты в

последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 16D, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-IL6 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части сирукумаба (с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO. 335 и 336, соответственно, см. таблицу 5 и 16E). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 347 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи сирукумаба) и SEQ ID NO: 348 (кодирующие Fab-часть легкой цепи сирукумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 335 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID

NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 16E. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 347 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 347). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 357 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 336. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 335. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 336, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 335. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность. SEQ ID NO: 335 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,

8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16E) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 336 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16E) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab сирукумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 335 и 336, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: T114N (тяжелая цепь), Q159N или Q159S (легкая цепь) и/или E194N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR сирукумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 16E, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-IL6 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части олокизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 337 и 338, соответственно, см. таблицу 5 и 16F). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать

нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 349 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи олокизумаба) и SEQ ID NO: 350 (кодирующие Fab-часть легкой цепи олокизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепе содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 337 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ESKYGPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 214) и, в частности, ESKYGPPCPPCPA (SEQ ID NO: 216), ESKYGPPCPSCPA (SEQ ID NO: 217), ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 218) или ESKYGAPVFL (SEQ ID NO: 218) или ESKYGAPV9, как показано на фиг. 16F. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 349 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 349). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 358 (таблица 7) или Fc-домен IgG4, такой как SEQ ID NO: 285, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или

несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 338. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 337. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 338, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 337. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 337 с 1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16F), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 338 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16F) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или

нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab олизикумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепи SEQ ID NO: 337 и 338, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: L115N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR олокизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 16F, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельных доменов тяжелой и/или легкой цепи анти-IL6 антитело или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части герилимзумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 339 и 340, соответственно, см. таблицу 5 и 16G). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 351 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи герилимзумаба) и SEQ ID NO: 352 (кодирующие Fab-часть легкой цепи герилимзумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в

мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 339 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 16G. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 351 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 7 (SEQ ID NO: 351). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283 или изображенный на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 340. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL6 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 339. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента

кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 340, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 339. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 339 с 1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех области вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16G), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL6 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 340 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 16G), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab герилимзумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 339 и 340, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: M117N (тяжелая цепь) и/или Q198N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL6 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR герилимзумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 16G, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы

антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-IL6 антитело или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CD19 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части инебилизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 63 и 64, соответственно, см. таблицу 5 и фиг.161). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 133 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи инебилизумаба) и SEQ ID NO: 134 (кодирующие Fab-часть легкой цепи инебилизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или нескольких клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или несколькими клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые перечислены в таблицах 3 и 4 ниже.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L, трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-CD19 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 63 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или

EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 16C. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 133 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 133). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 311 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такую как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CD19 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CD19 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CD19 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген CD19 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CD19 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 64, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 63. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CD19 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63 с 1, 2 , 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных

областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 161), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген CD19 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 161), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CD19 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab инебилизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 63 и 64, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: L116N (тяжелая цепь), Q164N или Q164S (легкая цепь) и/или E199N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-CD19 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR инебилизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 161, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-CD19 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от NMO путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб или инебилизумаб, и представляет собой, например, полноразмерное, по существу полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент.

Также обеспечены способы лечения субъектов людей от неинфекционного увеита, DR или DME путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-IL6R антитело, или анти-IL6 антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб, и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент.

 вариантах осуществления у пациента было диагностировано и/или имеется симптом(ы), связанный с одним или несколькими глазными нарушениями. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.3. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам сетчатки человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8. Альтернативно, векторы, несущие капсид AAV2.7m8 или AAV9, могут быть использованы для лечения глазных заболеваний. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 16A-I, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в сетчатку, например, путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.3.

Обеспечены способы лечения, ингибирования или ослабления вредного иммунного ответа у субъектов-людей путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-IL6R антитело или анти-IL6 антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб, и представляет собой, например, полноразмерное, по существу полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент.

В вариантах осуществления у пациента диагностирован и/или имеется симптом(ы), связанные с вредным иммунным ответом, такие как воспаление или цитокиновый шторм, связанные с вирусной или бактериальной инфекцией, или он нуждается в терапии для лечения неблагоприятных побочных эффектов, в том числе профилактического, таких как воспаление и/или синдром высвобождения цитокинов, которые могут быть инициированы бактериальной или вирусной инфекцией, или в терапии на основе иммунотерапевтических средств, таких как иммуноонкологические терапевтические средства, или терапии на основе иммунных клеток, такой как, например, терапия на основе CAR-T-клеток. Вирусные инфекции включают грипп,

коронавирус, такой как SARS-CoV-2, или другую коронавирусную инфекцию и т.д. Иммунотерапевтические средства, которые могут инициировать побочные эффекты, которые можно предотвратить или ослабить, включают одноцепочечные антитела BiTE, терапевтические методы на основе CAR-T-клеток, такие как, но без ограничения тисагенлеклейсел (KYMRIAH®) или аксикабтаген силолейсел (YESCARTA®) или другие иммуноонкологические терапевтические средства, такие как антитимоцитарный глобулин (ATG), суперагонист CD28 TGN1412, ритуксимаб, обинутузумаб, алемтузумаб, брентуксимаб, дацетузумаб, ипилимумаб, ниволумаб или пембролизумаб, оксалиплатин или леналидомид. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам мышц или печени человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAY8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, например, показанные на фиг. 16A-H, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в печень или мышцы, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Подробную информацию о методах лечения см. в разделе 5.5.2.

Субъектами, которым проводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых было диагностировано одно или более глазных нарушений или у которых имеется один или более симптомов, связанных с ними, и которые идентифицированы как чувствительные к лечению анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 антителом, или считаются хорошими кандидатами для терапии анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 антителами. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению сатрализумабом, сарилумабом, тоцилизумабом, силтуксимабом, клазакизумабом, сирукумабом, олокизумабом, герилимзумабом или инебилизумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к сатрализумабу, сарилумабу, тоцилизумабу, силтуксимабу, клазакизумабу, сирукумабу, олокизумабу, герилимзумабу или инебилизумабу. В других вариантах осуществления пациенты ранее получали лечение анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 антителами. Для определения чувствительности трансгенный продукт анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения одного или более глазных нарушений, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 HuPTM Fab, субретинально, интравитреально или супрахориоидально субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов неинфекционного увеита, NMO, DR или DME, для создания постоянного депо в сетчатке, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками сетчатки. Альтернативно, продукция анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к образованию «биологически улучшенной» молекулы для лечения, ингибирования или ослабления вредного иммунного ответа, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-IL6R или анти-IL6 HuPTM Fab или HuPTM Mab, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов вредного иммунного ответа или для контроля побочных эффектов иммунной терапии, для создания постоянного депо в сетчатке, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками печени и/или мышц.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL6R HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей сатрализумаба, как показано на фиг. 16A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений) характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77, N161, N194 и/или N203 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 59) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 60). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий

фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей сатрализумаба содержит группу сульфатирования в Y94, Y95 и/или Y200 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 59) и/или Y49, Y50, Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 60). В других вариантах осуществления анти-IL6R HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL6R HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей сарилумаба, как показано на фиг. 16B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N54, Q108 и/или N158 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 61) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 62). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAh или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей сарилумаба имеет группу сульфатирования в Y32, Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 61) и/или Y86, Y87 и/или Y192 легкой цепи (SEQ ID NO: 62). В других вариантах осуществления анти-IL6R HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL6R HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей тоцилизумаба, как показано на фиг. 16H (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям N61, N77 и/или N161 тяжелой цепи

(SEQ ID NO: 341) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID НЕТ: 342). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей сатрализумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 341) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 342). В других вариантах осуществления анти-IL6R HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей силтуксимаба, как показано на фиг. 16C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или нескольким аминокислотным положениям Q111 и/или N161 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 331) или N60, N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 332). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей силтуксимаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 331) и/или Y85, и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 332). В других вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей клазакизумаба, как показано на фиг. 16D (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных

обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N76, Q112 и/или N162 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 333) или N30, N161 и/или N213 легкой цепи (SEQ ID NO: 334). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей клазакизумаба содержит группу сульфатирования в Y93 и/или Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 333) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 334). В других вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей сирукумаба, как показано на фиг. 16E (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или более аминокислотным положениям Q11 и/или N161 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 335) или N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 336). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи сирукумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 335) и/или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 336). В других вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей олокизумаба, как показано на фиг. 16F (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования

по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или нескольким аминокислотным положениям N79, Q112, N162 и/или N204 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 337) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 338). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей олокизумаба содержит группу сульфатирования в Y96 и/или Y97 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 337) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 338). В других вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей герилимзумаба, как показано на фиг. 16G (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или нескольким аминокислотным положениям N78, Q114, N164 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 339) или N71 и/или N174 легкой цепи (SEQ ID NO: 340). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей герилимзумаба содержит группу сульфатирования в Y95 и/или Y96 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 339) и/или Y88 и/или Y89 легкой цепи (SEQ ID NO: 340). В других вариантах осуществления анти-IL6 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-CD19 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными

последовательностями Fab-фрагментов тяжелой и легкой цепей инебилизумаба, как показано на фиг. 161 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или нескольким аминокислотным положениям N77, Q113 и/или N163 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 63) или N80, N162 и/или N214 легкой цепи (SEQ ID HET: 64). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей инебилизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 63) и/или Y90 и/или Y91 легкой цепи (SEQ ID NO: 64). В других вариантах осуществления анти-CD19 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования или облегчение одного или более симптомов одного или более глазных нарушений. В случае неинфекционного увеита эффективность можно контролировать путем измерения уменьшения боли, покраснения и/или светобоязни, и/или улучшение зрения по сравнению с исходным уровнем. В случае NMO, эффективность можно контролировать путем измерения улучшения зрения и чувствительности, и/или уменьшения слабости или паралича ног или рук, болезненных спазмов и/или неконтролируемой рвоты и икоты. В случае неинфекционного увеита эффективность можно контролировать путем наблюдения за остротой зрения, покраснением глаз, чувствительностью к свету и/или болью в глазах. Например, эффективность можно контролировать путем оценки изменения остроты зрения, покраснения глаз, чувствительности к свету и/или боли в глазах от исходного уровня. В случае DR и DME эффективность можно контролировать путем наблюдения за остротой зрения.

Например, эффективность можно контролировать путем оценки изменения остроты зрения от исходного уровня.

Альтернативно, цель генной терапии состоит в уменьшении, подавлении или улучшении вредного иммунного ответа у субъекта-человека, такого как субъект, страдающий вирусной или бактериальной инфекцией, включая инфекцию SARS-coV-2 или COVID19, или при необходимости лечения побочных эффектов от иммунотерапии, такого как введение иммуноонкологического агента и/или клеточной иммунной терапии, такой как терапия CAR-T-клетками. Симптомы вредного иммунного ответа, включая синдром высвобождения цитокинов, включают высокую температуру, воспаление, сильную усталость, тошноту и могут привести к повреждению тканей или органов, включая полиорганную недостаточность.

Комбинации доставки анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцы, сопровождаемой доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, обеспеченными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно вводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения субъекта с неинфекционным увеитом, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, азатиоприн, метотрексат, микофенолат мофетил, циклоспорин, циклофосфамид, кортикостероиды (местные и/или системные) и другие, а также введение с анти-IL6R или анти-IL6, включая, но без ограничения, сарилумаб, сатрализумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб. Доступные способы лечения субъекта с NMO, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, азатиоприн (IMRUN®, AZASAN®), метотрексат, микофенолат мофетил (CELLCEPT®), ритуксимаб (RITUXAN®), кортикостероиды (местные и/или системные) и другие, а также введение с агентами против IL6R, против IL6 или против CD19, включая, но без ограничения, сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб или инебилизумаб. Доступные способы лечения DR или DME, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, лазерную фотокоагуляцию, фотодинамическую терапию вертепорфином, афлиберцепт и/или интравитреальные стероиды, анти-VEGF агенты и др., а также введение с агентами против IL6R или против CD19, включая, но без ограничения, сарилумаб, сатрализумаб, тоцилизумаб,

силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб или инебилизумаб.

5.3.16 Анти-интегрин (субъединица β7) HuPTM конструкции и составы для лечения болезни Крона и язвенного колита

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с субъединицей β7 интегрина (ITGB7), показанной для лечения воспалительного заболевания кишечника (IBD) (например, UC и CD). В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb содержит аминокислотную последовательность этролизумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагментов этролизумаба представлена на фиг. 17. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей ITGB7-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное, или другое производное) пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов IBD (например, UC или CD), для создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный организмом человека, трансгенный продукт.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с ITGB7, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, связывающегося с ITGB7, такой как этролизумаб или его варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-ITGB7 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al.).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ITGB7 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части этролизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 65 и 66, соответственно, см. таблицу 5 и 17). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для

экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 135 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи этролизумаба) и SEQ ID NO: 136 (кодирующие Fab-часть легкой цепи этролизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-ITGB7 антигенсвязывающий домен содержит вариабельный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 65 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO : 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 17. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 135, кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 135). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 311 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или

несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ITGB7 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген ITGB7 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 66. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ITGB7 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген ITGB7 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ITGB7 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 66, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 65. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген ITGB7 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 , 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех области вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 17), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген ITGB7 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 17), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или

нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ITGB7 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab этролизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 65 и 66, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L112N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-ITGB7 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR этролизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 17, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-ITGB7 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Методы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей с IBD путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к ITGB7 или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой этролизумаб и представляет собой, например, полноразмерное или по существу полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента был поставлен диагноз и/или имеются симптомы, связанные с одним или более из IBD.

Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, описан в разделе 5.4.3. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 17, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в печень, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.2.

Субъектами, которым вводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-ITGB7 терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был поставлен диагноз IBD или у которых имеется один или несколько симптомов, связанных с ним, и которые идентифицированы как чувствительные к лечению антителом к ITGB7 или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к ITGB7. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению этролизумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к этролизумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт антитела к ITGB7 или антигенсвязывающего фрагмента (например, полученный в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-ITGB7 HuPTM mAb или HuPTM Fab должно приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения IBD, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-ITGB7 HuPTM Fab, подкожно, внутримышечно или внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом IBD, для создания постоянного депо в мышце или печени, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками мышцы или печени.

Конструкция кДНК для анти-ITGB7 HuPTM mAb или анти-ITGB7 HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками мышцы или печени. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). В качестве альтернативы сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым клетками мышцы или печени, соответственно.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-ITGB7 HuPTM mAb или HuPTM Fab можно продуцировать в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводить пациентам с

диагнозом заболевания сетчатки или рака, для которых терапия IBD считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления анти-ITGB7 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей этролизумаба, как показано на фиг. 17 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или нескольким аминокислотным положениям N60, N76, Q109 и/или N159 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 65) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 66). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей этролизумаба содержит группу сульфатирования в Y93 и/или Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 65) и/или Y36, Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 66). В других вариантах осуществления анти-ITGB7 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования заболевания, подвергаемое лечению, или облегчение одного или нескольких его симптомов. Что касается CD, эффективность можно контролировать путем оценки индекса активности болезни Крона [CDAI] в течение курса лечения (например, см. Best WR et al. (1976) Gastroenterology, Mar;70(3):439-44,“Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study.”). Что касается UC, эффективность можно контролировать путем оценки по шкале Мейо и показателю по эндоскопической части шкалы Мейо в течение курса лечения (например, см. Lobaton et al.,“The Modified Mayo Endoscopic Score (MMES): ANew Index for the Assessment of

Extension and Severity of Endoscopic Activity in Ulcerative Colitis Patients," J. Crohns Colitis. 2015 Oct:9(10):846-52.

Комбинации доставки анти-ITGB7 HuPTM mAh или его антигенсвязывающего фрагмента в мышцу или печень, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения IBD, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (например, месаламин, сульфасалазин), стероиды (например, гидрокортизон, преднизон, будесонид), иммунодепрессанты (например, метотрексат, меркаптопурин, азатиоприн), витамины (например, железо, холекальциферол), антибиотики (например, аминосалициловая кислота, метронидазол), другие антитела (например, инфликсимаб, адалимумаб) и введение с анти-ITGB7, включая, но без ограничения, этролизумаб.

5.3.17. Анти-склеростин HuPTM конструкции и составы при остеопорозе

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются со склеростином (SOST), полученным из антитела к SOST, такого как ромосозумаб (фиг.18), и показаны для лечения остеопороза или аномальной потери костной массы или слабости (например, при лечении гигантоклеточной опухоли кости, лечения потери костной массы, вызванной лечением, замедления потери (или увеличения) костной массы у пациентов с раком молочной железы и простаты, предотвращения связанных со скелетом событий из-за метастазирования кости или для уменьшения резорбции и ремоделирования кости. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью ромосозумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагмента этого антитела показана на фиг.18. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей SOST-связывающее HuPTM mAb (или антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям), у которых диагностирован остеопороз или наблюдается потеря костной массы для создания постоянного депо, которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

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

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOST антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части ромосозумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 67 и 68, соответственно, см. таблицу 5 и 18). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 137 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи) и SEQ ID NO: 138 (кодирующие Fab-часть легкой цепи ромосозумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени (например, гепатоцитах) или мышечных клетках человека. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-SOST антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 67 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности

ERKCCVECPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 220) или ERKCCVECPPCPA (SEQ ID NO: 221), как показано на фиг. 18. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 137 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 137). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 313 (таблица 7) или Fc-домен IgG2, такой как SEQ ID NO: 284, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOST антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген SOST фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 68. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOST антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген SOST фрагмент, содержащий тяжелую

ую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99 % идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOST антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86 %, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO. : 68, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 67. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SOST фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных

областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 18), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген SOST фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 18), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOST антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab ромосозумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 67 и 68, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T118N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-SOST антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ромозозумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 18, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-SOST антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения людей от остеопороза или аномальной потери костной массы (например, у пациентов с раком молочной железы или простаты или из-за метастазов в кости) путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к SOST, или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой ромосозумаб, например, полноразмерное или по существу полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий

фрагмент. В вариантах осуществления у пациента диагностирован остеопороз или аномальная потеря костной массы и/или имеются симптомы, связанные с ними. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантный вектор, такой как показан на фиг. 18, может быть введен любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в печень или мышечную ткань, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.2.

Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто отвечает на против SOST терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был диагностирован остеопороз или аномальная потеря костной массы, или у которых один или более симптомов связаны с ними и которые определены как отвечающие на лечение антителом к SOST или считающиеся хорошими кандидатами для терапии с помощью антитела к SOST. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению ромосозумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к ромосозумабу. Чтобы определить чувствительность, трансгенный продукт антитела к SOST или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-SOST HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения остеопороза или потери костной массы, осуществляемого с помощью генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-SOST HuPTM Fab, внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов остеопороза или потери костной массы, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно снабжает полностью человеческим посттрансляционно модифицированным, например, гликозилированным организмом человека, сульфатированным трансгенным продуктом, продуцируемым трансдуцированными клетками печени или мышц.

Конструкция кДНК для анти-SOST HuPTM mAb или анти-SOST HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и

посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени или мышц. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения, анти-SOST HuPTM mAb или HuPTM Fab можно продуцировать в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводить пациентам с диагнозом остеопороза или потери костной массы, или тем, для кого терапия остеопороза или потери костной массы считается целесообразной.

В конкретных вариантах осуществления анти-SOST HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей ромосозумаба, как показано на фиг. 18 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуются гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q115, N165, N198 и/или N207 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 67) или N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 68). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепи ромосозумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y204 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 67) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 68). В других вариантах осуществления анти-SOST HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью генной терапии, представленной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования

остеопороза или потери костной массы. Эффективность может контролироваться путем оценки костной ткани или скелетных событий или их отсутствия. Например, в отношении остеопороза эффективность можно контролировать с помощью оценки содержания минеральных веществ в кости, оценки рентгенограмм при переломах позвонков или диагностической визуализации для подтверждения клинических переломов.

Комбинации доставки анти-SOST HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцы, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно вводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения остеопороза или потери костной массы, которые могут сочетаться с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, бисфосфонаты (например, золедроновую кислоту), гормон паращитовидной железы (например, терипаратид [PTH 1-34] и/или полноразмерный PTH 1-84), кальций, витамин D, агенты против RANKL и химиотерапию, криотерапию или лучевую терапию у пациентов с диагнозом рак, а также прием анти-SOST средств, включая, но без ограничения, ромосозумаб.

5.3.18. Анти-pKal HuPTM конструкции и составы при ангионевротическом отеке и диабетической ретинопатии

Описаны композиции и способы для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с калликреином (pKal), полученных из антитела к pKal, и показаны для лечения ангионевротического отека, такого как наследственный ангионевротический отек. В других вариантах осуществления представлены композиции и способы для лечения диабетической ретинопатии и диабетического макулярного отека. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb содержит аминокислотную последовательность ланаделумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагмента этого антитела представлена на фиг. 19. Доставка может быть осуществлена с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей связывающее pKal HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом ангионевротического отека или диабетической ретинопатии и диабетического макулярного отека, для создания постоянного депо,

которое непрерывно снабжает человеческим PTM, например, гликозилированным организмом человека, трансгенным продуктом.

Трансгены

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

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части ланаделумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 69 и 70, соответственно, см. таблицу 5 и 19). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 139 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи ланаделумаба) и SEQ ID NO: 140 (кодирующие Fab-часть легкой цепи ланаделумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). В качестве альтернативы сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно. Для показаний диабетической ретинопатии и диабетического макулярного отека сигнальная последовательность может управлять экспрессией и секрецией в клетках глаза или сетчатки человека, например, одна из сигнальных последовательностей в таблице 5.

В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-pKal антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 69 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности. EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 19. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 139 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 139). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 314 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID No. 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены конструкции, кодирующие полноразмерный ланаделумаб, включая Fc-домен, в частности, нуклеотидную последовательность L01, L02 или L03 (SEQ ID NO: 141, 286 или 287, соответственно), как описано в примере 36 и таблице 8 в настоящем документе, которые оптимизированы по кодонам и, в случае L02 и L03, обеднены димерами CpG. Трансген может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146; например, на N-конце тяжелой и/или легкой цепи), которая может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 422. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, могут быть разделены линкером Furin-2A (SEQ ID NO: 231) для создания бицистронного вектора. Альтернативно, нуклеотидные последовательности легкой цепи и тяжелой цепи разделены линкером Furin-T2A, таким как SEQ ID NO:

429, и кодируемым SEQ ID NO: 424. Экспрессия ланаделумаба может направляться конститутивным или тканеспецифическим промотором. В некоторых вариантах осуществления трансген содержит промотор CAG (SEQ ID NO: 411) или промотор TBG (SEQ ID NO; 423). Альтернативно, промотор может представлять собой тканеспецифический промотор (или регуляторную последовательность, включая элементы промотора и энхансера), такой как регуляторная последовательность APOE.hAAT (SEQ ID NO: 412), LSPX1 (SEQ ID NO: 315), LSPX3, LTP1 (SEQ ID NO; 317) или промотор LMTP6 (SEQ ID NO: 320), или промотор CK8 (SEQ ID NO: 413). См. фиг. 24A, где схематически показана геномная конфигурация. Трансгены могут содержать элементы, представленные в таблице 1. Примеры трансгенов, кодирующих полноразмерный ланаделумаб, представлены в таблице 8 и включают CAG.LAN F2A (SEQ ID NO: 436); CAG.LAN.T2A (SEQ ID NO; 437); TBG LAN.T2A (SEQ ID NO; 438); APOE.hAAT.LAN.T2A (SEQ ID NO: 439); LSPX1.LAN.T2A (SEQ ID NO; 440); LSPX2.LAN.T2A (SEQ ID NO: 441); LTP1.LAN.T2A (SEQ ID NO: 442); и LMTP6.LAN.T2A (SEQ ID NO: 443). Последовательности ITR добавлены к 5’ и 3’ концам конструкций для создания геномов. Трансгены могут быть упакованы в AAV, особенно в AAV8.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген pKal фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 70. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген pKal фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 69. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 70, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична

последовательности, представленной в SEQ ID NO: 69. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген pKal фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 19), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген pKal фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на фиг. 19) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab ланаделумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 69 и 70, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: M117N (тяжелая цепь) и/или Q159N, Q159S и/или E194N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-pKal антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ланаделумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 19, которые расположены между каркасными областями, обычно человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-pKal антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от ангионевротического отека путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к pKal или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой ланаделумаб и представляет собой, например, полноразмерное или по существу полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент, или его другой антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента диагностировали и/или имеются симптомы, связанные с ангионевротическим отеком. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2, а иллюстративные трансгены представлены выше. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9, предпочтительно AAV8. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 19, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в печень или мышечную ткань, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток, например, путем внутривенного или внутримышечного введения. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.2.

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от диабетической ретинопатии или диабетического макулярного отека путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к pKal, или его антигенсвязывающий фрагмент. См. также раздел 5.3.8 выше. Антитело может представлять собой ланаделумаб и представляет собой, например, полноразмерное или по существу полноразмерное антитело или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента было диагностировано и/или имеются симптомы, связанные с диабетической ретинопатией или диабетическим макулярным отеком. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.3, и иллюстративные трансгены представлены выше. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам сетчатки человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 19, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в ткань сетчатки, например, как описано в разделе 5.5.3. В конкретных вариантах осуществления трансген представляет собой CAG.LAN.F2A (SEQ ID NO: 436); CAG.LAN.T2A (SEQ ID NO; 437); TBG.LAN.T2A (SEQ ID NO; 438); APOE.hAAT.LAN.T2A (SEQ ID NO: 439); LSPX1.LAN.T2A (SEQ ID NO; 440); LSPX2.LAN.T2A (SEQ ID NO: 441);

LTP1.LAN.T2A (SEQ ID NO: 442); или LMTP6.LAN.T2A (SEQ ID NO: 443) в векторе AAV8.

Подробную информацию о способах лечения см. в разделах 5.5.2 и 5.5.4.

В примерах 51, 53, 54 и 56 в настоящем документе представлены результаты анализа уровней ланаделумаба в сыворотке у мышей и крыс, которым вводили векторы AAV, кодирующие полноразмерный ланаделумаб, для оценки различных промоторов и других регуляторных элементов, линкеров, типов AAV, способов введения и т.д. Такие результаты дают информацию о дозировке рекомбинантного вектора AAV, кодирующего ланаделумаб, которая необходима для достижения уровней в сыворотке, в частности, устойчивых уровней в сыворотке, достаточных для терапевтической эффективности. Устойчивые уровни в сыворотке с достаточной терапевтической эффективностью могут быть определены с помощью клинических исследований, например, как указано в инструкции по применению ланаделумаба (см. инструкцию по применению TAKHZYRO®). В конкретных вариантах осуществления вектор AAV8 ланаделумаба вводят пациенту, который в этом нуждается, например, пациенту с диагнозом или страдающим HAE, в дозировке (векторные геномы), достаточной для экспрессии терапевтически эффективных уровней ланаделумаба в сыворотке пациента. В конкретных вариантах осуществления введение приводит к достижению C_{max} от 9 мкг/мл до 35 мкг/мл, включая от 12 мкг/мл до 25 мкг/мл или от 20 мкг/мл до 35 мкг/мл; и C_{min} от 4 мкг/мл до 25 мкг/мл или C_{min} больше 20 мкг/мл, но в некоторых вариантах осуществления менее 200 мкг/мл или 500 мкг/мл. Концентрация в сыворотке или плазме предпочтительно достигается в виде стабильной концентрации, например, поддерживая уровни в сыворотке или плазме в пределах C_{max} и C_{min} в течение по меньшей мере 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев или более 3 месяцев или 1 года. В конкретных вариантах осуществления введение вектора AAV приводит к устойчивой концентрации ланаделумаба в плазме, составляющей от 5 мкг/мл до 30 мкг/мл или от 10 мкг/мл до 20 мкг/мл; или от 15 мкг/мл до 30 мкг/мл, или более 20 мкг/мл, но в некоторых вариантах осуществления менее 200 мкг/мл или 500 мкг/мл. В конкретных вариантах осуществления антитело ланаделумаб, секретируемое в плазму, демонстрирует снижение активности pKal более чем по меньшей мере на 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% или 70%, измеренное с помощью кинетического ферментативного функционального анализа, например, анализа, описанного в примере 57. В некоторых вариантах осуществления активность антитела ланаделумаба измеряют через 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, через 11

недель или 12 недель после введения вектора AAV. Обеспеченные в настоящем документе способы лечения снижают частоту или тяжесть возникновения или приступов ангионевротического отека. В конкретных вариантах осуществления ангионевротический отек возникает в коже, желудочно-кишечном тракте или верхних дыхательных путях.

Субъекты, у которых проводят такую генную терапию, могут представлять собой тех субъектов, которые реагируют на анти-pKal терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был диагностирован ангионевротический отек или диабетическая ретинопатия, или у которых имеется один или более симптомов, связанных с ними, и которые идентифицированы как реагирующие к лечению анти-pKal антителом или считаются хорошими кандидатами для терапии анти-pKal антителом. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению ланаделумабом, и было обнаружено, что они реагируют на ланаделумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт анти-pKal антитела или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-pKal HuPTM mAh или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения ангионевротического отека, достигаемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-pKal HuPTM Fab, внутривенно субъектам-людям (пациентам), у которых диагностирован или имеется один или более симптомов ангионевротического отека, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками печени или мышц.

В конкретных вариантах осуществления анти-pKal HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей ланаделумаба, как показано на фиг. 19 (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных

обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N77, Q114 и/или N164 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 69) или Q99, N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 70). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей ланаделумаба содержит группу сульфатирования у Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 69) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 70). В других вариантах осуществления анти-pKal HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab (или гипергликозилированное производное любого из них) являются терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилированы и/или сульфатированы, и могут быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже на 50% или 100% гликозилированы и/или сульфатированы. Целью генной терапии, обеспеченной в настоящем документе, является замедление или остановка прогрессирования ангионевротического отека, снижение уровней боли или дискомфорта для пациента, или снижение уровней аутореактивных B-клеток и плазматических клеток, продуцирующих иммуноглобулин. Эффективность можно контролировать путем оценки функции, симптомов или степени воспаления в пораженной ткани или области тела, например, такой как кожа, суставы, почки, легкие, клетки крови, сердце и головной мозг. Например, эффективность можно контролировать путем оценки изменений в тяжести или частоте приступов.

Комбинации доставки анти-pKal HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцу, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, обеспеченными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения с помощью генной терапии. Доступные способы лечения ангионевротического отека, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, даназол, антагонист рецептора брадикинина (например, икатибант), ингибитор калликреина плазмы (например, экалантид), ингибитор C1-эстеразы, конестат альфа, антифибринолитические агенты (например, транексамовая кислота), омализумаб и переливание свежезамороженной плазмы,

антигистаминные препараты и кортикостероиды, а также введение с агентами против pKal, включая, но без ограничения, ланаделумаб.

5.3.19. HuPTM конструкции и составы против IL и IL-рецептора и других мишеней при аутоиммунных, респираторных и аллергических заболеваниях

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с интерлейкинами (IL), рецепторами интерлейкина (ILR) (например, *IL31RA, IL13, IL5* или *IL-5*), иммуноглобином E (IgE) или тимическим стромальным лимфопоэтином (TSLP), полученными из анти-IL, анти-ILR, анти-IgE или анти-TSLP, показанных для лечения одного или более аутоиммунных расстройств, респираторных заболеваний и аллергических заболеваний, таких как атопический дерматит, хроническая идиопатическая крапивница, астма, эозинофильная астма или хроническая обструктивная болезнь легких (COPD) (совместно именуемые в дальнейшем в настоящем документе как «субъекты AI-D»). В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb содержит аминокислотную последовательность бенрализумаба, реслизумаба, тралокинумаба, немолизумаба, омализумаба или тезепелумаба или антигенсвязывающего фрагмента одного из вышеперечисленных. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов этих антител представлены на фиг. 29A-29F, соответственно. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей IL/ILR-связывающее, IgE-связывающее или TSLP-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом или наличием одного или более симптомов атопического дерматита, хронической идиопатической крапивницы, астмы, эосфинофильной астмы или COPD, для создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный организмом человека, трансгенный продукт.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с IL/ILR, IgE или TSLP, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные

последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с IL/ILR, такого как бенрализумаб, реслизумаб, тралокинумаб, немолизумаб; IgE, такого как омализумаб; или TSLP, такого как тезепелумаб, или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al.).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части бенрализумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 364 и 365, соответственно, см. таблицу 5 и 29A). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 380 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи бенрализумаба) и SEQ ID NO: 381 (кодирующие Fab-часть легкой цепи бенрализумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также и доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL5 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 364 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHT CPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194) и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID

NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 29A. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 380 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 380). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на C-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 394 (таблица 7), или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL5 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 365. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL5 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 364. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID. NO: 365, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 364. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL5 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 364 с 1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных

областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29A), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL5 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 365 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29A), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab бенрализумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 364 и 365, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L116N (тяжелая цепь) и/или Q160N, Q160S и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR бенрализумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 29A, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL5 или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5R антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части реслизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 366 и 367, соответственно, см. таблицу 4 и 29B). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 382 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи реслизумаба) и SEQ ID NO: 383 (кодирующие Fab-часть легкой цепи реслизумаба), как указано в таблице 6.

Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL5R антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 366 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ESKYGPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO: 214) и, в частности, ESKYGPPCPPCPA (SEQ ID NO: 216), ESKYGPPCPSCPA (SEQ ID NO: 217), ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 218) или ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 219), как показано на фиг. 29B. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 382 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 382). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 395 (таблица 7), или Fc-домен IgG4, такой как SEQ ID NO: 285, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL5R фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 367. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5R антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL5R фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 366. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 367, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 366. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL5R фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 366 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29B), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL5R фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29B), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген IL5R антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab резлизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 366 и 367, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L111N (тяжелая цепь) и/или Q160N, Q160S и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL5R антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR реслизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 29B, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL5R или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL13 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части тралокинумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 368 и 369, соответственно, см. таблицу 5 и 29C). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 384 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи тралокинумаба) и SEQ ID NO: 385 (кодирующие Fab-часть легкой цепи тралокинумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL13 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 368 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ESKYGPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID

NO: 214), и в частности, ESKYGPPCPPCPA (SEQ ID NO: 216), ESKYGPPCPSCPA (SEQ ID NO: 217), ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 218) или ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO: 219), как показано на фиг. 29C. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 384 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 384). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на C-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 396 (таблица 7), или Fc-домен IgG4, такой как SEQ ID NO: 285, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL13 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL13 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 369. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL13 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL13 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 368. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL13 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 369, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 368. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL13 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 368 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или

делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29C) или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL13 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 369 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29C), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL13 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab тралокинумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 368 и 369, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L117N (тяжелая цепь) и/или Q196N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL13 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR тралокинумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 29C, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL-13 или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL31RA антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части немолизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 370 и 371, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 29D). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 386 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи немолизумаба) и SEQ ID NO:

387 (кодирующие Fab-часть легкой цепи немолизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IL31RA антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 370 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ERKSCVECPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 433) или ERKSCVECPPCPA (SEQ ID NO: 434), как показано на фиг. 29D. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 386 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 386). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 397 (таблица 7), или Fc-домен IgG2, такой как SEQ ID NO: 284, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL31RA антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL31RA фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 371.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL31RA антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IL31RA фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 370. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL31RA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 371, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или на 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 370. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL31RA фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 370 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29D), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IL31RA фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 371 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29D), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL31RA антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab немолизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 370 и 371, соответственно, с одной или несколькими из следующих мутаций: L116N (тяжелая

цепь) и/или Q160N, и/или Q160S, и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IL31RA антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR немолизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 29D, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL31RA или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IgE антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи Fab-части омализумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 372 и 33, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 29E). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 388 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи омализумаба) и SEQ ID NO: 389 (кодирующие Fab-часть легкой цепи омализумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-IgE антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 372 с дополнительной последовательностью

шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHT CPPCPAPELLGG (SEQ ID NO: 194), и в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 196), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 197), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO: 198), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO: 199), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 200) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO: 201), как показано на фиг. 29E. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 388 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 388). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 398 (таблица 7) или Fc-домен IgG1, такой как SEQ ID NO: 283, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IgE антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IgE фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 373. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IgE антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген IgE фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 372. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IgE антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 373, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 372. В конкретных вариантах

осуществления связывающий антиген IgE фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 372 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29E), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген IgE фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 373 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29E), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IgE антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab омализумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 372 и 373, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L116N (тяжелая цепь) и/или Q164N, и/или Q164S, и/или E199N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-IgE антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR омализумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 29E, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-IgE антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TSLP антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части тезепелумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 374 и 375, соответственно, см.

таблицу 5 и фиг. 29F). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 390 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи тезепелумаба) и SEQ ID NO: 391 (кодирующие Fab-часть легкой цепи тезепелумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-TSLP антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 374 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ERKCCVECPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 220) или ERKCCVECPPCPA (SEQ ID NO: 221), как показано на фиг. 29E. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 390 кодирующими шарнирную область последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 390). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность Fc-домена IgG2, такую как SEQ ID NO: 284, или как изображено на фиг. 23, или его мутант или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TSLP антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген TSLP фрагмент,

содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 375. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TSLP антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген TSLP фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 374. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TSLP антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 375, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 374. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TSLP фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29F), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано сравнением на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген TSLP фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 29F), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или нескольких других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TSLP антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab

тезепелумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 374 и 375, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: M117N (тяжелая цепь) и/или Q196N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-TSLP антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR тезепелумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 29F, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к TSLP или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Обеспечены способы лечения субъектов-людей от ангионевротического отека путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой бенрализумаб, реслизумаб, тралокинумаб, немолизумаб, омализумаб или тезепелумаб, и представляет собой, например, полноразмерное или по существу полноразмерное антитело, или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления у пациента был поставлен диагноз и/или у него имеются симптомы, связанные с AI-D. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать нереплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на фиг. 29A-29F, могут быть введены любым способом, так что рекомбинантный вектор входит в печень или мышечную ткань, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.2.

Субъекты, у которых проводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был поставлен диагноз AI-D или у которых имеется один или несколько симптомов, связанных с ним, и которые определены как реагирующие на лечение антителами к IL/ILR, IgE или TSLP, или считаются хорошими кандидатами для терапии антителами к IL/ILR, IgE

или TSLP. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью дупилумаба, иксекизумаба, секукинумаба, устекинумаба, меполизумаба, бенрализумаба, реслизумаба, тралокинумаба, немолизумаба, омализумаба или тезепелумаба, и было обнаружено, что они реагируют на дупилумаб, иксекизумаб, секукинумаб, устекинумаб, меполизумаб, бенрализумаб, реслизумаб, тралокинумаб, немолизумаб, омализумаб или тезепелумаб. Для определения восприимчивости трансгенный продукт анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP антитела или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP HuPTM mAb или HuPTM Fab должна привести к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения ангионевротического отека, достигаемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP HuPTM Fab, внутривенно субъектам-людям (пациентам), у которых поставлен диагноз или имеется один или несколько симптомов ангионевротического отека, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками печени или мышц.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей бенрализумаба, как показано на фиг. 29A (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q113 и/или N163 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 364) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 365). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей бенрализумаба содержит группу сульфатирования в Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 364) и/или Y86, и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 365). В других вариантах

осуществления анти-IL5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL5R HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей реслизумаба, как показано на фиг. 29B (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием по одному или нескольким аминокислотным положениям N35, Q108, N158 и/или N200 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 366), или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 367). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей реслизумаба содержит группу сульфатирования в Y93 и/или Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 366), и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 367). В других вариантах осуществления анти-IL5R HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL13 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей тралокинумаба, как показано на фиг. 29C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N54, N164 и/или N206 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 368), или N68 и/или N172 легкой цепи (SEQ ID NO: 369). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей

тралокинумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 368), и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 369). В других вариантах осуществления анти-IL13 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL31RA HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-фрагментов тяжелой и легкой цепей немолизумаба, как показано на фиг. 29D (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q113, N163, N196 и/или N205 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 370), или N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO : 371). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей немолизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 370), и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 371). В других вариантах осуществления анти-IL31RA HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IL31RA HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-фрагментов тяжелой и легкой цепей немолизумаба, как показано на фиг. 29D (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-О-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям Q113, N163, N196 и/или N205 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 370), или N158 и/или N210 легкой цепи

(SEQ ID NO : 371). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей немолизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 370), и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 371). В других вариантах осуществления анти-IL31RA HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-IgE HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей омализумаба, как показано на фиг. 29E (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или нескольким аминокислотным положениям N36, N59, N77, Q113 и/или N159 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 372), или Q104, N162 и/или N214 легкой цепи (SEQ ID NO: 373). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей омализумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 372), и/или Y90 и/или Y91 легкой цепи (SEQ ID NO: 373). В других вариантах осуществления анти-IgE HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В конкретных вариантах осуществления анти-TSLP HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей тезепелумаба, как показано на фиг. 29F (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием,

по одному или более аминокислотным положениям N77, N80, Q114, N164, N197 и/или N206 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 374), или N68 и/или N172 легкой цепи (SEQ ID NO: 375). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей тезепелумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 374), и/или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 375). В других вариантах осуществления анти-TSLP HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab (или гипергликозилированное производное любого из них) является терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью лечения представленной в настоящем документе генной терапией является замедление или остановка прогрессирования AI-D, уменьшение уровня боли или дискомфорта для пациента.

Эффективность можно контролировать путем оценки симптомов или степень воспаления в пораженной ткани или области тела, например, такой как кожа. Что касается атопического дерматита, эффективность можно контролировать путем оценки изменений в пораженной коже или в качестве жизни пациента в течение курса лечения. Для оценки изменений можно использовать одну или более стандартизированных оценок (см., например, глобальную оценку врача (PGA), решетчатую систему, шкалу тяжести псориаза NPF (NPF-PS), краткую форму оценки здоровья по 36 пунктам на основании исследования течения заболевания (SF-36), Euro QoL, индекс качества жизни при дерматологических заболеваниях (DLQI) и Skindex; публикацию Schram et al. (2012) Allergy; 67: 99-106: «EASI, (objective) SCORAD and POEM for atopic eczema: responsiveness and minimal clinically important difference», в которой описаны стандартизированные оценки, включая Индекс площади поражения и степени тяжести экземы (EASI) и Индекс степени тяжести атопического дерматита (SCORAD)). Что касается COPD и астмы, эффективность можно контролировать путем оценки изменения симптомов или измерения функции дыхательных путей по пиковой скорости выдоха (PEV) или спирометрии (например, FEV_1). Что касается

эозинофильной астмы, эффективность можно контролировать путем оценки изменений в обострениях астмы и функции легких (например, нарушение проходимости дыхательных путей, форсированная жизненная ёмкость легких и остаточный объем), и теста по контролю над астмой. Что касается хронической идиопатической крапивницы, эффективность можно контролировать путем оценки изменений в пораженной коже или изменений в степени отека губ, век или горла.

Комбинации доставки анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцу, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно вводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения для субъектов с AI-D, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, антигистаминные препараты, блокаторы H2, местные кортикостероиды или антидепрессанты от хронической идиопатической крапивницы, аминосалицилаты, иммуномодулирующие агенты (например, азатиоприн (AZA), 6-меркаптопурин (6-MP), метотрексат (MTX)), пероральные или местные кортикостероиды (например, преднизон или будесонид), местные ингибиторы кальциневрина, ингаляционные кортикостероиды для лечения астмы или COPR, лейкотриеновые модификаторы, высокие дозы ингаляционных кортикостероидов и пероральные кортикостероиды, и/или местные стероиды для лечения атопического дерматита, и введение с анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP агентами, включая, но без ограничения, дупилумаб, иксекизумаб, секукинумаб, устекинумаб, меполизумаб, бенрализумаб, реслизумаб, тралокинумаб, немолизумаб, омализумаб или тезепелумаб.

5.3.20 HuPTM конструкции и составы для лечения неинфекционного увеита

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с рецептором интерлейкина-6 (IL6R), интерлейкином-6 (IL6), TNFα или C5, происходящими из анти-IL6R, анти-IL6, анти-TNFα или анти-C5 антитела, такого как сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб, тезидолумаб, равулизумаб, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб (фиг. 10B и 10D, 12A-12C и 16A-I), показанные для лечения увеита, предпочтительно неинфекционного заднего увеита (NIU).

В некоторых вариантах осуществления обеспечены способы лечения панувеита или промежуточного увеита, включая ассоциированный с NIU. Соответственно, также обеспечены способы лечения NIU, панувеита и промежуточного увеита. Увеит представляет собой воспаление глаза, которое может быть связано с системными аутоиммунными заболеваниями, включая болезнь Бехчета, саркоидоз, ювенильный хронический артрит, синдром Фогта-Коянаги-Харада, рассеянный склероз и другие аутоиммунные заболевания, в частности, аутоиммунные заболевания, опосредованные Т-клетками. В других вариантах осуществления NIU ассоциирован с глазным аутоиммунным заболеванием, таким как хориоретинопатия «выстрел дробью», мультифокальный хориоидит и другие синдромы белых точек. Способы лечения включают способы ингибирования и уменьшения прогрессирования потери зрения и повреждения глаз, таких как рубцевание или атрофия желтого пятна, образование ламеллярных отверстий желтого пятна и атрофия зрительного нерва. В частности, этот способ лечения может улучшить остроту зрения (например, определяемую по шкале остроты зрения с максимальной коррекцией (BCVA) или замедлить потерю остроты зрения и/или повреждение глаз. Другие проявления NIU включают помутнение стекловидного тела, макулярный ретинит и васкулит. Таким образом, обеспечены способы лечения, уменьшения тяжести и уменьшения прогрессирования помутнения стекловидного тела, макулярного ретинита и/или васкулита, ассоциированных с NIU, путем введения HuPTM.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb содержит аминокислотную последовательность сатрализумаба, сарилумаба, тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилимзумаба, тезидолумаба, равулизумаба, адалимумаба, инфликсимаба или голимумаба, или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотные последовательности Fab-фрагментов антитела представлены на фиг. 10B, 10D, 12A-12C или 16A-I. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей IL6R-связывающее, IL6-связывающее, TNFα-связывающее или C5-связывающее HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое производное), пациент (субъектам-людьми), у которых диагностирован один или более симптомов неинфекционного увеита, для создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный организмом человека, трансгенный продукт.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с IL6R, IL6, TNFα или C5, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с IL6R, IL6, TNFα или C5, такого как сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб, тезидолумаб, равулизумаб, адалимумаб, инфликсимаб, голимумаб или их варианты, как подробно описано в настоящем документе. Трансген может также кодировать анти-IL6R, анти-IL6, анти-TNFα или анти-C5 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (*например*, см. Courtois et al). Трансгены подробно описаны в разделах 5.3.9, 5.3.11 или 5.3.15 выше.

В предпочтительных вариантах осуществления антитело, которое связывается с TNFα, представляет собой адалимумаб или его варианты, как описано в настоящем документе. Например, антитело адалимумаб полной длины или Fab можно доставлять путем введения вектора на основе аденоассоциированного вируса (AAV), кодирующего mAb адалимумаб (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или его гипергликозилированное производное или другое производное), такого как CAG.адалимумаб.IgG (SEQ ID NO: 451) или CAG.адалимумаб.Fab (SEQ ID NO: 453).

Последовательности, кодирующие трансгены анти-C5, анти-IL6R, анти-IL6 или TNF-α антигенсвязывающего фрагмента, представлены в таблице 5 (аминокислота) или таблице 6 (нуклеотид), или на фиг. 10A, 10D, 12A-12C или 16A-16I. Последовательности тяжелой и легкой цепей содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в одной или более клетках, образующих сетчатку. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 2, которые соответствуют белкам, секретируемым одной или более клетками, образующими сетчатку. Альтернативно, сигнальная последовательность может

подходить для экспрессии в мышечных клетках или клетках печени, таких как те, которые указаны в таблицах 3 и 4 ниже.

Анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или анти-TNFα антигенсвязывающий домен может содержать Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 39, 362, 45, 47, 49, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 59 или 61 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей все или часть аминокислотных последовательностей, представленных на фиг. 10B, 10D, 12A-C или 16A-16I, и как подробно описано в разделах 5.3.9, 5.3.11 или 5.3.15.

В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 301, 303, 304, 305, 309, 310, 355-359 или 394-398 (таблица 7), или Fc-домен IgG1, IgG2 или IgG4, такой как SEQ ID No. 283, 284, или 285, или как изображено на фиг. 23, или его мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

Анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или анти-TNFα антигенсвязывающий домен может содержать Fab-домен легкой цепи SEQ ID NO: 40, 363, 46, 48, 50, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 60 или 62 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей все или часть аминокислотных последовательностей, представленных на фиг. 10B, 10D, 12A-C или 16A-16I, и как подробно описано в разделах 5.3.9, 5.3.11 или 5.3.15.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген C5, IL6, IL6R или TNFα фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 40, 363, 46, 48, 50, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 60 или 62. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или анти-TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген C5, IL6, IL6R или TNFα фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%

идентична последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 39, 362, 45, 47, 49, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 59 или 61. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или TNFα антигенсвязывающий фрагмент кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или на 99% идентична последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 40, 363, 46, 48, 50, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 60 или 62, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 39, 362, 45, 47, 49, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 59 или 61. В конкретных вариантах осуществления анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или анти-TNFα антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39, 362, 45, 47, 49, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 59 или 61 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10B, 10D, 12A-C или 16A-I), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген C5, IL6, IL6R или TNFα фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, 363, 46, 48, 50, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 60 или 62 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (*например*, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10B, 10D, 12A-C или 16A-I), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 39 и 40, 362 и 363, 45 и 46, 47 и 48, 49 и 50, 331 и 332, 333 и 334, 335 и 336, 337 и 338, 339 и 340, 341 и 342, 59 и 60 или

61 и 62, соответственно, с одной или более из следующих мутаций, как показано на фиг. 20A (тяжелая цепь) и 20B (легкая цепь).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или TNFα антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельного домена тяжелой и легкой цепи на фиг. 10B, 10D, 12A-12C или 16A-16I, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к C5, IL6, IL6R или TNFα, или его антигенсвязывающего фрагмента.

Способы генной терапии

Также, обеспечены способы лечения людей-субъектов от неинфекционного увеита путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-IL6R, анти-IL6, анти-TNFα или анти-C5 антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб, тезидолумаб, равулизумаб, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб, и представляет собой, например, его Fab-фрагмент или другой его антигенсвязывающий фрагмент.

В вариантах осуществления у пациента поставлен диагноз и/или имеется симптом(ы), ассоциированные с неинфекционным увеитом. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.3. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам сетчатки человека и могут включать не реплицирующийся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8. Альтернативно, векторы, несущие капсид AAV2.7m8 или AAV9, могут быть использованы для глазных заболеваний. Рекомбинантные векторы, например, показанные на фиг. 10B, 10D, 12A-C или 16A-I, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в сетчатку, например, путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.3.

Субъектами, которым назначают такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-IL6R, анти-IL6, анти-TNFα или анти-C5 терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был диагностирован неинфекционный увеит, или у которых имеется один или более

связанных с ним симптомов, и которые определены как реагирующие на лечение антителом к IL6R, IL6, TNFα или C5, или считается хорошими кандидатами для терапии анти-IL6R, анти-IL6, анти-TNFα или анти-C5 антителом. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению с помощью сатрализумаба, сарилумаба, тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилимзумаба, тезидолумаба, равулизумаба, адалимумаба, инфликсимаба или голимумаба, и было обнаружено, что они реагируют на сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилимзумаб, тезидолумаб, равулизумаб, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб. В других вариантах осуществления пациенты ранее получали лечение антителами к IL6R, IL6, TNFα или C5. Для определения восприимчивости трансгенный продукт анти-IL6R, анти-IL6, анти-TNFα или анти-C5 антитела или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемого в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-IL6R, анти-IL6, анти-TNFα или анти-C5 HuPTM mAb или HuPTM Fab должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения неинфекционного увеита, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-IL6R, анти-IL6, анти-TNFα или анти-C5 HuPTM Fab, субретинально, интравитреально или супрахориоидально субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов неинфекционного увеита, чтобы создать постоянное депо в сетчатке, которое непрерывно поставляет полностью человеческий пост-трансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками сетчатки.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью лечения представленной в настоящем документе генной терапией является замедление или остановка прогрессирования или облегчение одного или нескольких симптомов неинфекционного увеита, например, снижение уровня боли, покраснения глаз, чувствительности к свету и/или другого дискомфорта для пациента. Эффективность можно контролировать

путем измерения уменьшения боли, покраснения глаз и/или светобоязни, и/или улучшения зрения. Эффективность также можно оценить путем мониторинга остроты зрения с максимальной коррекцией (BCVA) и/или выполнения аппланационной тонометрии, исследования переднего и заднего сегментов с помощью щелевой лампы, дилатационной непрямой офтальмоскопии и оптической когерентной томографии (ОТС), и сравнения с исходными значениями.

В конкретных вариантах осуществления анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей, как показано на фиг. 10B, 10D, 12A-12C или 16A-16I (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, в одном или более аминокислотных положениях. Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей содержит группа сульфирования тяжелой цепи и/или легкой цепи. В других вариантах осуществления анти-C5, анти-IL6, анти-IL6R или анти-TNFα HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержит обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью. См. разделы 5.3.9, 5.3.11 или 5.3.15 для подробного описания сайтов Y-сульфатирования и других посттрансляционных модификаций.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилирован и/или сульфатирован, и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью лечения представленной в настоящем документе генной терапией является замедление или остановка прогрессирования или облегчение одного или нескольких симптомов неинфекционного увеита. Эффективность можно контролировать путем наблюдения за остротой зрения, покраснением глаз, чувствительностью к свету и/или болью в глазах. Например, эффективность можно контролировать путем оценки изменения остроты зрения, покраснения глаза, чувствительности к свету и/или боли в глазах от исходного уровня.

Комбинации доставки анти-IL6, анти-IL6R, анти-TNFα или анти-C5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в сетчатку, сопровождаемой доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения субъекта с неинфекционным увеитом, которые можно сочетать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, азатиоприн, метотрексат, микофенолат мофетил, циклоспорин, циклофосфамид, кортикостероиды (местные и/или системные (пероральные и/или вдыхаемые)) и другие, и введение с агентами против TNFα, против IL6, против IL6R или против C5, включая, но без ограничения, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб.

Конструкции для доставки в клетки типа сетчатки

В разделах 5.3.9, 5.3.11 и 5.3.15 описаны рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с C5, TNFα, IL6R и IL6. Такие рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, могут характеризоваться тропизмом для одного или более типов клеток сетчатки человека. Такие векторы могут включать нереплицирующиеся рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы («rAAV»), например, те, которые несут капсид AAV8. Альтернативно, можно использовать AAV-вектор, содержащий капсид AAV2.7m8. Однако могут быть использованы другие вирусные векторы, включая, но без ограничения, лентивирусные векторы, векторы коровьей оспы или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК».

В предпочтительных вариантах осуществления обеспечены конструкции для введения генной терапии субъекту-человеку, содержащие AAV-вектор, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или капсида AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелые и легкие цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека (например, клетках сетчатки или клетках печени), которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим

способом, как раскрыто в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления кодированный капсид AAV8 или AAV2.7m8 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 143 или 142 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 21, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, включая трансген HuPTM Fab, контролируются соответствующими элементами контроля экспрессии для экспрессии HuPTM Fab или HuPTM Mab в клетках сетчатки или печени человека, например, промотором CB7 (промотор β-актина птиц и энхансер CMV/CAG, SEQ ID NO: 411), или тканеспецифическими промоторами и могут включать другие элементы контроля экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого вектором. Последовательности промоторов и последовательности других регуляторных элементов, таких как интроны, представлены в таблице 1.

Конструкции генной терапии для антител или Fab сконструированы таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны экспрессироваться примерно в равных количествах, другими словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются примерно при соотношении 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелая и легкая цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Лидерная последовательность для каждой из тяжелых и легких цепей представляет собой, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). В разделе 5.1.5, выше, представлены конкретные последовательности IRES, 2A и других линкеров, которые можно использовать со способами и композициями, представленными в настоящем документе. В конкретных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер фурин-2A, например, линкер фурин-F2A RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 231) или линкер фурин-T2A RKRR(GSG)EGRGSLLTCGD VEENPGP (SEQ ID NO: 429). В конкретных

вариантах осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность - Fab-часть тяжелой цепи - линкер фурин (F/T)2A - сигнальная последовательность - Fab-часть легкой цепи. См. фиг. 10B и 10D для последовательностей для экспрессии Fab тезидолумаба и равулизумаба, соответственно; фиг. 12A-12C для последовательности для экспрессии Fab адалимумаба, инфликсимаба и голимумаба, соответственно; и фиг. 16A-16I для последовательностей для экспрессии Fab сатрализумаба, сарилумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилимзумаба и тоцилизумаба, и инебилизумаба, соответственно. В альтернативном варианте осуществления конструкция также содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую Fc-домен для терапевтического антитела (см. таблицу 7 или фиг. 23) для экспрессии полноразмерного mAb. Нуклеотидные последовательности для трансгенов mAb адалимумаба и одноцепочечных конструкций Fab описаны в таблице 17. Также, обеспечены последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие последовательности компонентов тяжелых и легких цепей адалимумаба, либо полноразмерные (SEQ ID NO: 444 и 448), либо Fab-фрагменты (компоненты, кодируемые SEQ ID NO: 445 и 446 (тяжелая цепь) и 498-450 (легкая цепь).

В конкретном варианте осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) промотор CB7 (SEQ ID NO: 411), содержащий энхансер CMV/промотор β-актина птиц, b) интрон куриного b-актина и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи C5-связывающего, TNFβ-связывающего, IL6R-связывающего и IL6-связывающего Fab, разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/(F/T)2A (SEQ ID NO: 231 или 429, соответственно), обеспечивая экспрессию в равных количествах полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В предпочтительном варианте осуществления описанная в настоящем документе конструкция содержит следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) промотор CB7 (SEQ ID NO: 411), содержащий энхансер CMV/промотор куриного β-актина, b) интрон куриного β-актина и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот,

кодирующие последовательности компонентов тяжелых и легких цепей адалимумаба, либо полноразмерные (SEQ ID NO: 444 и 448), либо Fab-фрагменты (компоненты, кодируемые SEQ ID NO: 445 и 446 (тяжелые цепь) и 498-450 (легкая цепь), разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/T2A (SEQ ID NO: 429), обеспечивая экспрессию в равных количествах полипептидов тяжелых и легких цепей.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-C5, анти-TNFα, анти-IL6R и анти-IL6 mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в одном или более типах клеток сетчатки (таких как клетки фоторецепторов человека (клетки колбочек, клетки палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (клетка среднего размера, зонтичная клетка, бистратифицированная клетка, гигантская ганглиозная клетка сетчатки, светочувствительная ганглиозная клетка и глия Мюллера); и клетки пигментного эпителия сетчатки).

В предпочтительном варианте осуществления обеспечен AAV, содержащий вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий mAb адалимумаб (SEQ ID NO: 451) или его антигенсвязывающий фрагмент (SEQ ID NO: 453), функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в одном или более типах клеток сетчатки (таких как клетки фоторецепторов человека (клетки колбочек, клетки палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (клетка среднего размера, зонтичная клетка, бистратифицированная клетка, гигантская ганглиозная клетка сетчатки, светочувствительная ганглиозная клетка и глия Мюллера); и клетки пигментного эпителия сетчатки).

Введение для доставки в клетки типа сетчатки

Терапевтически эффективные дозы рекомбинантного вектора, описанного выше, следует вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в сетчатку, например, путем введения рекомбинантного вектора непосредственно в глаз. В конкретных вариантах осуществления вектор вводят субретинально (хирургическая процедура, выполняемая обученными хирургами по сетчатке глаза, которая включает частичную витрэктомию с субъектом под местной анестезией и инъекцию генной терапии в сетчатку, либо интравитреально, либо супрахориоидально, например, путем микроинъекции или микроканюляция. Субретинальное, интравитреальное или супрахориоидальное введение должно приводить к экспрессии растворимого трансгенного продукта в одном или более из следующих типов клеток сетчатки: фоторецепторные клетки человека (клетки колбочек, клетки палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (карликовые клетки, зонтичные клетки, бистратифицированные клетки, гигантские ганглиозные клетки сетчатки, светочувствительные ганглиозные клетки и глия Мюллера); и клетки пигментного эпителия сетчатки. Экспрессия кодируемых анти-C5, анти-TNFα, анти-IL6R и анти-IL6 антител приводит к доставке и поддержанию трансгенного продукта в сетчатке. Фармацевтические композиции, подходящие для введения, включают суспензию рекомбинантного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-C5, анти-TNFα, анти-IL6R и анти-IL6 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в буфере для составления, содержащем физиологически совместимый водный буфер. Буфер для составления может содержать один или более из полисахарида, поверхностно-активного вещества, полимера или масла.

Экспрессия полноразмерного mAb в клетках типа сетчатки

В конкретном варианте осуществления для экспрессии интактного или по существу интактного mAb в клетках типах сетчатки описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор куриного β-актина, b) интрон куриного β-актина и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие Fab тяжелой цепи анти-C5 (например, тезидолумаб, равулизумаб), анти-TNFα (например, адалимумаб, инфликсимаб и голимумаб), анти-IL6R (например, сатрализумаб, сарилумаб и тоцилизумаб), анти-IL6 (например, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб

и герилимзумаб), полипептид Fc, связанный с терапевтическим антителом (таблица 6 и X), или того же изотипа IgG, что и нативная форма терапевтического антитела, такая как аминокислотная последовательность изотипа IgG из фиг. 23, и легкую цепь анти-C5 (например, тезидолумаб и равулизумаб), анти-TNFα (например, адалимумаб, инфликсимаб и голимумаб), анти-IL6R (например, сатрализумаб, сарилумаб и тоцилизумаб) и анти-IL6 (например, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб и герилимзумаб), где тяжелая цепь (Fab и полипептид Fc) и легкая цепь разделены саморасщепляющимся линкером фурином(F)/(T/F)2A или гибким линкером, обеспечивая экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), где экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий интактное или по существу интактное анти-C5, анти-TNFα, анти-IL6R или анти-IL6 mAb, функционально связанное с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в одном или более типах клеток сетчатки (таких как фоторецепторные клетки человека (клетки колбочек, клетки палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (карликовые клетки, зонтичные клетки, бистратифицированные клетки, гигантские ганглиозные клетки сетчатки, светочувствительные ганглиозные клетки и глия Мюллера); и клетки пигментного эпителия сетчатки).

5.3.21. Анти-C5 HuPTM конструкции и составы для лечения миастении гравис

Композиции и способы описаны для доставки HuPTM mAb и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как HuPTM Fab, которые связываются с компонентом 5 комплемента (анти-C5), полученным из анти-C5 антитела, такого как равлизумаб (фиг. 10D), и показаны для лечения миастении гравис. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb характеризуется аминокислотной последовательностью ромосозумаба или его антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность Fab-фрагмента этого антитела представлена на фиг. 10D. Доставка может быть осуществлена посредством генной терапии - например,

путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей связывающее C5 HuPTM mAb (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое производное), пациентам (субъектам-людям) с диагнозом миастения гравис, для создания постоянного депо, которое непрерывно поставляет человеческий PTM, например, гликозилированный организмом человека, трансгенный продукт.

Трансгены

Обеспечены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с C5, который можно вводить для доставки HuPTM mAb или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с C5, такого как равлизумаб или его варианты, как подробно описано в данном документе. Трансген может также кодировать анти-C5 антигенсвязывающий фрагмент, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи Fab-части равулизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 362 и 363, соответственно, см. таблицу 5 и фиг. 10D). Нуклеотидные последовательности могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 378 (кодирующие Fab-часть тяжелой цепи равулизумаба) и SEQ ID NO: 379 (кодирующие Fab-часть легкой цепи равулизумаба), как указано в таблице 6. Последовательности тяжелой и легкой цепи содержат сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках печени человека (например, гепатоцитах) или мышечных клетках. Сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которые соответствуют белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В дополнение к последовательностям вариабельного домена тяжелой и легкой цепей, а также доменов C_H1 и C_L трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C_H1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления анти-С5 антигенсвязывающий домен содержит Fab-домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 362 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержащей всю или часть аминокислотной последовательности ERKCCVECPPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 220) или ERKCCVECPPCPA (SEQ ID NO: 221), как показано на фиг. 10D. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 378 кодирующими шарнирные области последовательностями, представленными в таблице 6 (SEQ ID NO: 378). В другом варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие Fc-домен на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 393 (таблица 7), или Fc-домен IgG2, такой как SEQ ID NO: 284, или как изображено на фиг. 23, или его мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или несколькими Fc-рецепторами и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-С5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген С5 фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 363. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-С5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует связывающий антиген С5 фрагмент, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотная последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 362. В некоторых вариантах осуществления трансген анти-С5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID. NO: 363, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%,

88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 362. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген C5 фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 362 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10D), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20A. В конкретных вариантах осуществления связывающий антиген C5 фрагмент содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 363 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, и замены, вставки или делеции выполняются, например, в каркасных областях (например, в тех областях вне CDR, которые подчеркнуты на фиг. 10D), или представляют собой замены на аминокислоту, присутствующую в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как показано выравниванием на фиг. 20B.

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует гипергликозилированный Fab равулизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 363 и 362, соответственно, с одной или более из следующих мутаций L117N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. фиг. 20A (тяжелая цепь) и B (легкая цепь)).

В некоторых вариантах осуществления трансген анти-C5 антигенсвязывающего фрагмента кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR ромозозумаба, которые подчеркнуты в последовательностях вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей на фиг. 10D, которые расположены между каркасными областями, как правило, человеческими каркасными областями, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области, для образования вариабельного домена тяжелой и/или легкой цепи анти-C5 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Методы генной терапии

Обеспечены способы лечения людей от миастении гравис путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-C5 антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой равлизумаб, например, полноразмерное или по существу полноразмерное антитело, или его Fab-фрагмент, или другой его антигенсвязывающий фрагмент. В вариантах осуществления пациенту был поставлен диагноз и/или у него имеются симптомы, связанные с миастенией гравис. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.4.2. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Рекомбинантный вектор, такой как показанный на фиг. 10D, можно вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор проникал в печень или мышечную ткань, например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Подробную информацию о способах лечения см. в разделе 5.5.2.

Субъектами, у которых проводят такую генную терапию, могут быть те, кто реагирует на анти-C5 терапию. В некоторых вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых был поставлен диагноз миастения гравис или у которых имеется один или несколько симптомов, связанных с ней, и которые определены как реагирующие на лечение антителом к C5 или считаются хорошими кандидатами для терапии антителом к C5. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее подвергались лечению равлизумабом, и было обнаружено, что они чувствительны к равулизумабу. Для определения чувствительности трансгенный продукт анти-C5 антитела или антигенсвязывающего фрагмента (например, полученного в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

Посттрансляционно модифицированные антитела человека

Продукция анти-C5 HuPTM mAb или Fab HuPTM должна приводить к получению «биологически улучшенной» молекулы для лечения миастении гравис, осуществляемого с помощью генной терапии - например, путем введения вирусного вектора или другой экспрессирующей ДНК конструкции, кодирующей анти-C5 HuPTM Fab, внутривенно субъектам-людям (пациентам) с диагнозом или наличием одного или более симптомов остеопороза или потери костной массы, для создания постоянного депо в печени или мышечной ткани, которое непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, гликозилированный организмом человека, сульфатированный трансгенный продукт, продуцируемый трансдуцированными клетками печени или мышц.

Конструкция кДНК для анти-C5 HuPTM mAb или анти-C5 HuPTM Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками печени или мышц. Например, сигнальная последовательность может представлять собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Альтернативно, сигнальная последовательность может характеризоваться аминокислотной последовательностью, выбранная из любой из сигнальных последовательностей, представленных в таблице 3 или 4, которая соответствует белкам, секретируемым миоцитами или гепатоцитами, соответственно.

В качестве альтернативы или дополнительного к генной терапии лечения анти-C5 HuPTM mAb или HuPTM Fab можно продуцировать в клеточных линиях человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК и вводить пациентам, у которых диагностирован остеопороз или потеря костной массы, или которым лечение остеопороза или потери костной массы считается целесообразным.

В конкретных вариантах осуществления анти-C5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи с аминокислотными последовательностями Fab-частей тяжелой и легкой цепей равулизумаба, как показано на фиг. 10D (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайтами тирозин-O-сульфатирования (Y), как указано в перечне условных обозначений), характеризуется гликозилированием, в частности, 2,6-сиалилированием, по одному или более аминокислотным положениям N63, N106, Q114, N164, N197 и/или N206 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 362) или N28, Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 363). Альтернативно или в дополнение HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельного домена тяжелой и легкой цепей равлизумаба содержит группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 362), и/или Y86 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 363). В других вариантах осуществления анти-C5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент не содержат обнаруживаемых фрагментов NeuGc и/или не содержат обнаруживаемых фрагментов альфа-Gal. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное mAb с Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или Fab является терапевтически эффективным и гликозилирован и/или сульфатирован по меньшей мере

на 0,5%, 1% или 2% и может быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилирован и/или сульфатирован. Целью лечения представленной в настоящем документе генной терапией является замедление или остановка прогрессирования миастении гравис. Эффективность можно контролировать путем оценки изменения выносливости или утомляемости по сравнению с исходным уровнем, например, с помощью шкалы количественной оценки тяжести клинических проявлений миастении гравис (Quantitative Myasthenia Gravis Score, QMGS), мануально-мышечного тестирования (Manual Muscle Test, MMT) и/или оценки мышц при миастении (Myasthenia Muscle Score) (см. Barnett C et al. Neurol Clin. 2018 May; 36(2): 339-353.). Например, балл по шкале QMSC оценивает изменения в птозе, диплопии, слабости круговых мышц глаза, проглатывании чашки воды, речи, прогнозируемой форсированной жизненной емкости легких в процентах, силе захвата (2 пункта), выносливости руки (2 пункта), выносливости ног (2 пункта) и выносливости при сгибании шеи.

Комбинации доставки анти-C5 HuPTM mAb или его антигенсвязывающего фрагмента в печень или мышцы, сопровождаемые доставкой других доступных способов лечения, охватываются способами, представленными в настоящем документе. Дополнительное лечение можно проводить до, одновременно или после лечения генной терапией. Доступные способы лечения миастении гравис, которые можно комбинировать с генной терапией, обеспеченной в настоящем документе, включают, но без ограничения, пиридостигмин, кортикостероиды или иммунодепрессанты и введение анти-C5 агентов, включая, но без ограничения, равулизумаб.

ТАБЛИЦА 5. Таблица аминокислотных последовательностей Fab-фрагментов

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Соланезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 1	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RYSMSWVRQA PGKGLELVAQ INSVGNSTYY PDTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASGD YWGQGTLVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKKV EPKSCD +/- KTHT(or KTHL) +/-CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Соланезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 2	DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLI YSDGNAYLHW FLQKPGQSPR LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQSTHVP WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
GSK933776	Тяжелая/ SEQ ID NO: 3	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCA A/V SGFTFS DNGMAWVRQA PGKGLEWVSF ISNLAYSIDY ADTVTGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCVSGT WFAYWGQGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL)+/- CPPCPA +/- PELAGAPSVFL
GSK933776	Легкая/ SEQ ID NO: 4	DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRVSQSLL HSNGYTYLHW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQTRHVP YTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
AL-001	Тяжелая/ SEQ ID NO: 5	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT KYYMSWVRQA PGQGLEWMGI INPIGGSTSY AQKFQGRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARDP SGIALAGPAS RGYQGMDVWG QGTTVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKRVEPK SCD +/- KTHT (or KTHL) +/-CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
AL-001	Легкая/ SEQ ID NO: 6	EIVMTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQSVS SNLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASTRATGIPA RFSGSGSGTE FTLTISSLQS EDFAVYYCQQ ARLGPWTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
ABBV-8E12	Тяжелая/ SEQ ID NO: 7	EVKVVESGGG LVQPGGSMKL SCVVSGFTFS NYWVNWVRQA PGKGLEWVAQ IRLKSDNYAT HYEESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNNLRA EDSGIYYCTN WEDYWGQGTT VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTKTYTCNV DHKPSNTKVD KRVESKY +/- GPPCPPCPA (or GPPCPSCPA)+/- PEFLGGPSVFL
ABBV-8E12	Легкая/ SEQ ID NO: 8	DIVLTQSPDS LAVSLGERAT ISCRASQSVS TSRYSYIHWY QQKPGQFPKL LIKYASNLES GVPSRFSGSG SGTDFTLNIH PLEPEDFATY YCHHSWEIPL TFGQGTKLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
UCB-0107	Тяжелая/ SEQ ID NO: 9	EVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGFSLT SNDIAWIRQP PGKGLEWMGT IWTDGSTNYN A/T AVQSRVTIS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCARHRL YYGAFDYWGQ GTMVTVSSAS TKGPSVFPLA PCSRSTSEST AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTKTYT CNVDHKPSNT KVDKRVESKY +/- GPPCPPCPA (or GPPCPSCPA)+/- PEFLGGPSVFL
UCB-0107	Легкая/ SEQ ID	DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISCRSSQSLE YSDGYTYLEW YLQKPGQSPQ LLIYEVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQATHNP YTFGQGTKLE IKRTVAAPSV

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	NO: 10	FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
NI-105	Тяжелая/ SEQ ID NO: 11	QVQLVESGGG VVQPGRSLRV SCAASGFTFS SYDMHWVRQA PGKGLEWVAV IWFDGSNEFY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLF QMNSLRAEDT AVYYCARDLG ASVTTSNAEN FHHWGQGTLV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL)+/- CPPCPA +/- PELAGAPSVFL
NI-105	Легкая/ SEQ ID NO: 12	SYELTQPPSV SVSPGQTARI TCSGDALPKR YVYWYQQKSG QAPVLVIYED SKRPSGIPET FSGSSSGTMA TLTISGAQVE DEADYYCYST DSNGHHWVFG GGTKLTVLGQ PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TCS
VX15/2503	Тяжелая/ SEQ ID NO: 13	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYSFS DYYMHWVRQA PGQGLEWMGQ INPTTGGASY NQKFKGKATI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARYY YGRHFDVWGQ GTTVTVSSAS TKGPSVFPLA PCSRSTSEST AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVTVSSVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH KPSNTKVDKR VESKY +/- GPPCPPCPA(or GPPCPSCPA) +/- PEFLGGPSVFL
VX15/2503	Легкая/ SEQ ID NO: 14	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKASQSVD YDGDSYMNWY QQKPGQPPKL LIYAASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQSNEDPY TFGQGTKLEI KFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
Празинезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 15	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGMSWVRQA PGKGLEWVAS ISSGGGSTYY PDNVKGRFTI SRDDAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARGG AGIDYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKRVEPKSCD +/- KTHT(or KTHL) +/-CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Празинезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 16	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSIQTLL YSSNQKNYLA WFQQKPGKAP KLLIYWASIR KSGVPSRFSG SGSGTDFTLT ISSLQPEDLA TYYCQQYYSY PLTFGGGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
NI-202	Тяжелая/ SEQ ID NO: 17	EVQLVESGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYAMHWVRQA PGQRLEWMGW INAGNGKRKY SQKFQDRVTI NRDTSASTIY MELSSLGSED TAVYYCAREE DHAGSGSYLS MDVWGQGTLV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCD +/- KTHT(or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
NI-202	Легкая/ SEQ ID NO: 18	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSIQTLL YSSNQKNYLA WFQQKPGKAP KLLIYWASIR KSGVPSRFSG SGSGTDFTLT ISSLQPEDLA TYYCQQYYSY PLTFGGGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
MEDI-1341/TAK 341	Тяжелая/ SEQ ID NO: 19	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSS ISHLGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGGA NHGKYYYGMD KWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKRV EPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PEFEGGPSVFL
MEDI-1341/TAK 341	Легкая/ SEQ ID NO: 20	QAVLTQPASL SASPGASASL TCTLRSGAPL PKYRIYWYQQ KPGSPPQYLL RYKSDADKHQ GSGVPSRFSG SKDASANAGI LLISGLQSED EADYYCMVWD HGVWYFGGGT KLTVLGQPKA APSVTLFPPS SEELQANKAT LVCLISDFYP GAVTVAWKAD SSPVKAGVET TTPSKQSNNK YAASSYLSLT PEQWKSHRSY SCQVTHEGST VEKTVAPTEC S
NI-204.10D12	Тяжелая/ SEQ ID NO: 21	EVQLVESGGD LVRPGGSLRL SCVASGFTFS NYWMHWVRQA PGQRPVWVSR TNTDGRNTAY ADYAKGRFTI SRDNAKSTLY LQLNSLRAED TAVYFCARLR RNVADQITHN YYMDVWGKGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
NI-204.10D12	Легкая/ SEQ ID NO: 22	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ACRASQSVGT YLNWYQQKRG KAPKLLIFAA SSLQSGVPSR FSGSGSGTDF TLTISSLQPE DFATYYCQQS YSSPPTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
NI-204.12G7	Тяжелая/ SEQ ID NO: 23	QVQLVQSGAE VKKPGASVTL SCKASGYTFT AYYIHWVRQA REQGLEWMGV INPSTGTTFY AQNFPDRVSV TRDTSTSTVF MELHNLKSED TAVYYCARAI SEHGSGSYSP YYWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCD +/- KTHT (or KTHL)+/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
NI-204.12G7	Легкая/ SEQ ID NO: 24	SYELTQPPSV SVSLGQMAAI TCSGEALPKK YGYWYQQKPG QVPVLLIYRD VERPSGVPDR FSGSSSGTMV TLTISGVQAE DEADYYCLSA DSSGTWVFGG GTKLTVLGQP KANPTVTLFP PSSEELQANK ATLVCLISDF YPGAVTVAWK ADGSPVKAGV ETTKPSKQSN NKYAASSYLS LTPEQWKSHR SYSCQVTHEG STVEKTVAPT ECS
Эпинезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 25	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGIDLS GYYMNWVRQA PGKGLEWVGV IGINGATYYA SWAKGRFTIS RDNSKTTVYL QMNSLRAEDT AVYFCARGDI WGQGTLVTVS SASTKGPSVF

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDARVE PKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVTL
Эпинезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 26	QVLTQSPSSL SASVGDRVTI NCQASQSVYH NTYLAWYQQK PGKVPKQLIY DASTLASGVP SRFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDVATYYCL GSYDCTNGDC FVFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
Фреманезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 27	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYWISWVRQA PGKGLEWVAE IRSESDASAT HYAEAVKGRF TISRDNAKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYCLA YFDYGLAIQN YWGQGTLVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSNFGT QTYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCCVE +/- CPPCPA +/- PPVAG
Фреманезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 28	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASKRVT TYVSWYQQKP GQAPRLLIYG ASNRYLGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCSQ SYNYPYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Галканезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 29	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFG NYWMQWVRQA PGQGLEWMGA IYEGTGKTVY IQKFADRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARLS DYVSGFGYWG QGTTVTVSSA STKGPSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTKTY TCNVDHKPSN TKVDKRVESK Y+/-GPPCPPCPA (or GPPCPSCPA) +/- PEAAGGPSVFL
Галканезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 30	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASKDIS KYLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSGYHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ GDALPPTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Севацизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 31	EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFSFS NNDVMCWVRQ APGKGLEWIG CIMTTDVVTE YANWAKSRFT VSRDSAKNSV YLQMNSLRAE DTAVYFCARD SVGSPLMSFD LWGPGTLVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKKV EPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Севацизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 32	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT INCQASQSIY NNNELSWYQQ KPGKPPKLLI YRASTLASGV PSRFSGSGSG TDFTLTISSL QPEDVATYYC GGYKSYSNDG NGFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
LKA-651 NVS2	Тяжелая/ SEQ ID NO: 33	EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT SYWIGWVRQM PGKGLEWMGW IDPYRSEIRY SPSFQGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYYCARVS SEPFDSWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKRVEPKSC D +/- KTHT (or KTHL) CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
LKA-651 NVS2	Легкая/ SEQ ID NO: 34	SYVLTQPPSV SVAPGKTARI TCSGDKLGDH YAYWYQQKPG QAPVLVIYDD SKRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISRVEAG DEADYYCATW TFEGDYVFGG GTKLTVLGQP KAAPSVTLFP PSSEELQANK ATLVCLISDF YPGAVTVAWK ADSSPVKAGV ETTTPSKQSN NKYAASSYLS LTPEQWKSHR SYSCQVTHEG STVEKTVAPT ECS
LKA-651 NVS3	Тяжелая/ SEQ ID NO: 35	QVQLQQSGPG LVKPSQTLSL TCAISGDSVS SNTAAWNWIR QSPSRGLEWL GVIYYRSKWY NDYAVSVKSR ITINPDTSKN QFSLQLNSVT PEDTAVYYCA RSVPGGDPGL EHAFAYWGRG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKRVEPKSC D +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
LKA-651 NVS3	Легкая/ SEQ ID NO: 36	SYVLTQPPSV SVAPGKTARI TCSGDNLGTY YVEWYQQKPG QAPVLVIYDD SDRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISRVEAG DEADYYCASF ASWSDSVFGG GTKLTVLGQP KAAPSVTLFP PSSEELQANK ATLVCLISDF YPGAVTVAWK ADSSPVKAGV ETTTPSKQSN NKYAASSYLS LTPEQWKSHR SYSCQVTHEGS TVEKTVAPTE CS
Аскринвакумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 37	QVQLQESGPG LVKPSQTLSL TCTVSGGSIS SGEYYWNWIR QHPGKGLEWI GYIYYSGSTY YNPSLKSRVT ISVDTSKNQF SLKLSSVTAA DTAVYYCARE SVAGFDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PCSRSTSEST AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSNFGTQTYT CNVDHKPSNT KVDKTVERKC CVE +/- CPPCPA +/- PPVAG
Аскринвакумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 38	EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SSYLAWYQQK PGQAPRLLIY GTSSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYYCQ QYGSSPITFG QGTRLEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYSLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
Тезидолумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 39	EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTFS SYAISWVRQA PGQGLEWMGG IGPFFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARDT PYFDYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKRVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
Тезидолумаб	Легкая/	SYELTQPLSV SVALGQTARI TCSGDSIPNY YVYWYQQKPG QAPVLVIYDD SNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISRAQAG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	SEQ ID NO: 40	DEADYYCQSF DSSLNAEVFG GGTKLTVLGQ PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS
Каротуксимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 41	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCAASGFTFS DAWMDWVRQS PEKGLEWVAE IRSKASNHAT YYAESVKGRF TISRDDSKSS VYLQMNSLRA EDTGIYYCTR WRRFFDSWGQ GTTLTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Каротуксимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 42	QIVLSQSPAI LSASPGEKVT MTCRASSSVS YMHWYQQKPG SSPKPWIYAT SNLASGVPVR FSGSGSGTSY SLTISRVEAE DAATYYCQQW SSNPLTFGAG TKLELKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
ANX-007	Тяжелая/ SEQ ID NO: 43	QVQLVQSGAE LKKPGASVKV SCKSSGYHFT SYWMHWVKQA PGQGLEWIGV IHPNSGSINY NEKFESRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAGER DSTEVLPMDY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKRVE PKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
ANX-007	Легкая/ SEQ ID NO: 44	DVQITQSPSS LSASLGERAT INCRASKSIN KYLAWYQQKP GKAPKLLIYS GSTLQSGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAMYYCQQ HNEYPLTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Адалимумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 45	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASGFTFD DYAMHWVRQA PGKGLEWVSA ITWNSGHIDY ADSVEGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAKVS YLSTASSLDY WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Адалимумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 46	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NYLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCQR YNRAPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Инфликимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 47	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASGFIFS NHWMNWVRQS PEKGLEWVAE IRSKSINSAT HYAESVKGRF TISRDDSKSA VYLQMTDLRT EDTGVYYCSR NYYGSTYDYW GQGTTLTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCD +/- KTHT (or KT

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		HL)+/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Инфликсимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 48	DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSCRASQFVG SSIHWYQQRT NGSPRLLIKY ASESMSGIPS RFSGSGSGTD FTLSINTVES EDIADYYCQQ SHSWPFTFGS GTNLEVKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Голимумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 49	SKLQVQLVES GGGVVQPGRS LRLSCAASGF IFSSYAMHWV RQAPGNGLEW VAFMSYDGSN KKYADSVKGR FTISRDNSKN TLYLQMNSLR AEDTAVYYCA RDRGIAAGGN YYYYGMDVWG QGTTVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCD +/- KT HT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Голимумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 50	AGSEIVLTQS PATLSLSPGE RATLSCRASQ SVYSYLAWYQ QKPGQAPRLL IYDASNRATG IPARFSGSGS GTDFTLTISS LEPEDFAVYY CQQRSNWPPF TFGPGTKVDI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
Элезанумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 51	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SHGISWVRQA PGQGLDWMGW ISPYSGNTNY AQKLQGRVTM TTDTSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARVG SGPYYYMDVW GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCD +/- KTHT (or KT HL)+/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
Элезанумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 52	QSALTQPRSV SGSPGQSVTI SCTGTSSSVG DSIYVSWYQQ HPGKAPKLML YDVTKRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDEADYYC YSYAGTDTLF GGGTKVTVLG QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTTPSKQ SNNKYAASSY LSLTPEQWKS HRSYSCQVTH EGSTVEKTVA PTECS
NI-301	Heavy/ SEQ ID NO: 53	QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCSVSGGSII SRSSYWGWIR QPPGKGLEWI GGIYHSGNTY DNPSLKSRLT MSVDTSKNQF SLNLRSVTAA DTAVYYCARI VPGGDAFDIW GQGTMVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCD +/- KTHT (or KTHL)+/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
NI-301	Light/ SEQ ID NO: 54	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ACRASQSVGT YLNWYQQKRG KAPKLLIFAA SSLQSGVPSR FSGSGSGTDF TLTISSLQPE DFATYYCQQS YSSPPTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
PRX-004	Heavy/	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFTFS NYAMSWVRQA PGKGLEWVSS ISSGGSTYYP DSVKGRFTIS RDNSKNTLYL

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	SEQ ID NO: 55	QMNSLRAEDT AVYYCARYYY GQYFDFWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKRVEPKSC D +/- KT HT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
PRX-004	Light/ SEQ ID NO: 56	DIVMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVS TTVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASYRSTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFAVYYCQQ HYSTPLTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Памревлумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 57	EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTFS SYAISWVRQA PGQGLEWMGG IGPFFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARDT PYFDYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKRVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL)+/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
Памревлумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 58	SYELTQPLSV SVALGQTARI TCSGDSIPNY YVYWYQQKPG QAPVLVIYDD SNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISRAQAG DEADYYCQSF DSSLNAEVFG GGTKLTVLGQ PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS
Сатрализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 59	QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCAVSGHSIS HDHAWSWVRQ PPGEGLEWIG FISYSGITNY NPSLQGRVTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARSL ARTTAMDYWG EGTLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSNFGTQTY TCNVDHKPSN TKVDKTVERK SCVE +/- CPPCPA +/-P PVAG
Сатрализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 60	DIQMTQSPSS LSASVGDSVT ITCQASTDIS SHLNWYQQKP GKAPELLIYY GSHLLSGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLEA EDAATYYCGQ GNRLPYTFGQ GTKVEIERTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Сарилумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 61	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASRFTFD DYAMHWVRQA PGKGLEWVSG ISWNSGRIGY ADSVKGRFTI SRDNAENSLF LQMNGLRAED TALYYCAKGR DSFDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL)+ /- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Сарилумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 62	DIQMTQSPSS VSASVGDRVT ITCRASQGIS SWLAWYQQKP GKAPKLLIYG ASSLESGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFASYYCQQ ANSFPYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		LSSPVTKSFN RGEC
Инебилизумаю	Тяжелая/ SEQ ID NO: 63	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SSWMNWVRQA PGKGLEWVGR IYPGDGDTNY NVKFKGRFTI SRDDSKNSLY LQMNSLKTED TAVYYCARSG FITTVRDFDY WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKRVE PKSCD +/- KTHT (or K THL)+/- CPPCPA+/- PELLGGPSVFL
Инебилизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 64	EIVLTQSPD FQSVTPKEK VTITCRASE SVDTFGISF MNWFQQKPD QSPKLLIHE ASNQGSGVP SRFSGSGSG TDFTLTINS LEAEDAATY YCQQSKEVP FTFGGGTKV EIKRTVAAP SVFIFPPSD EQLKSGTAS VVCLLNNFY PREAKVQWK VDNALQSGN SQESVTEQD SKDSTYSLS STLTLSKAD YEKHKVYAC EVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
Этролизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 65	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFFIT NNYWGWVRQA PGKGLEWVGY ISYSGSTSYN PSLKSRFTIS RDTSKNTFYL QMNSLRAEDT AVYYCARTGS SGYFDFWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Этролизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 66	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASESVD DLLHWYQQKP GKAPKLLIKY ASQSISGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ GNSLPNTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Ромосозумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 67	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMGE INPNSGGAGY NQKFKGRVTM TTDTSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARLG YDDIYDDWYF DVWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSNFG TQTYTCNVDH KPSNTKVDKT VERKCCVE +/- CPPCPA+/- PPVAG
Ромосозумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 68	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRLLSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ GDTLPYTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Ланаделумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 69	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS HYIMMWVRQA PGKGLEWVSG IYSSGGITVY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAYRR IGVPRRDEFD IWGQGTMVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKRV EPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Ланаделумаб	Легкая/ SEQ ID	DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSIS SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASTLESGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNTYWTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	NO: 70	DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
Силтуксимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 331	EVQLVESGGK LLKPGGSLKL SCAASGFTFS SFAMSWFRQS PEKRLEWVAE ISSGGSYTYY PDTVTGRFTI SRDNAKNTLY LEMSSLRSED TAMYYCARGL WGYYALDYWG QGTSVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCD *+/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGG*PSVFL
Силтуксимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 332	QIVLIQSPAI MSASPGEKVT MTCSASSSVS YMYWYQQKPG SSPRLLIYDT SNLASGVPVR FSGSGSGTSY SLTISRMEAE DAATYYCQQW SGYPYTFGGG TKLEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
Клазакизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 333	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSLS NYYVTWVRQA PGKGLEWVGI IYGSDETAYA TSAIGRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDDS SDWDAKFNLW GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Клазакизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 334	AIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSIN NELSWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP DDFATYYCQQ GYSLRNIDNA FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
Сирукумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 335	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS PFAMSWVRQA PGKGLEWVAK ISPGGSWTYY SDTVTGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARQL WGYYALDIWG QGTTVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCD +-/ KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +-/ PELLGGPSVFL
Сирукумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 336	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCSASISVS YMYWYQQKPG QAPRLLIYDM SNLASGIPAR FSGSGSGTDF TLTISSLEPE DFAVYYCMQW SGYPYTFGGG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC
Олокизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 337	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNFN DYFMNWVRQA PGKGLEWVAQ MRNKNYQYGT YYAESLEGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCAR ESYYGFTSYW GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KY +/- GPPCPPCPA (or GPPCPSCPA) +/- PEFLGGPSVFL

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Олокизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 338	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQDIG ISLSWYQQKP GKAPKLLIYN ANNLADGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSAPYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Герилимзумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 339	EVQLQESGPG LVKPSQTLSL TCTVSGGSIT SRYYAWSWIR QPPGKGLEWI GVIDYDGDTY YSPSLKSRVS ISWDTSKNQF SLKLSSVTPA DTAVYYCARD PDVVTGFHYD YWGQGTMVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKKV EPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +-/ PELLGGPSVFL
Герилимзумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 340	QSALTQPPSV SGTPGQSVTI SCAGANNDIG TYAYVSWYQQ LPGTAPKLMI YKVTTRASGI PDRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDEADYYC ASYRNFNNAV FGTGTKLTVL GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
Тоцилизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 341	QVQLQESGPG LVRPSQTLSL TCTVSGYSIT SDHAWSWVRQ PPGRGLEWIG YISYSGITTY NPSLKSRVTM LRDTSKNQFS LRLSSVTAAD TAVYYCARSL ARTTAMDYWG QGSLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Тоцилизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 342	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYCQQ GNTLPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Леканемаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 360	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCSASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY ISSGSSTIYY GDTVKGRFTI SRDNAKNSLF LQMSSLRAED TAVYYCAREG GYYYGRSYYT MDYWGQGTTV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCD +/- KTHT +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Леканемаб	Легкая/ SEQ ID NO: 361	DVVMTQSPLS LPVTPGAPAS ISCRSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLRI SRVEAEDVGI YYCFQGSHVP PTFGPGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
Равулизумаб	Тяжелая/ SEQ ID	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGHIFS NYWIQWVRQA PGQGLEWMGE ILPGSGHTEY TENFKDRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARYF FGSSPNWYFD VWGQGTLVTV

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	NO:362	SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSNFGT QTYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCCVE +/- CPPCPA+/- PPVAG
Равулизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 363	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCGASENIY GALNWYQQKP GKAPKLLIYG ATNLADGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQN VLNTPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Бенрализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 364	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYVIHWVRQR PGQGLAWMGY INPYNDGTKY NERFKGKVTI TSDRSTSTVY MELSSLRSED TAVYLCGREG IRYYGLLGDY WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKV EPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Бенрализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 365	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCGTSEDII NYLNWYQQKP GKAPKLLIYH TSRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ GYTLPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Реслизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO:366	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGLSLT SNSVNWIRQA PGKGLEWVGL IWSNGDTDYN SAIKSRFTIS RDTSKSTVYL QMNSLRAEDT AVYYCAREYY GYFDYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPC SRSTSESTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTKTYTCN VDHKPSNTKV DKRV ESKY+/- GPPCPPCPA (or GPPCP SCPA) +/- PEFLGGPSVFL
Реслизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 367	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASEGIS SYLAWYQQKP GKAPKLLIYG ANSLQTGVPS RFSGSGSATD YTLTISSLQP EDFATYYCQQ SYKFPNTFGQ GTKVEVKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Тралокинумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 368	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYGLSWVRQA PGQGLEWMGW ISANNGDTNY GQEFQGRVTM TTDTSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARDS SSSWARWFFD LWGRGTLVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT KTYTCNVDHK PSNTKVDKRV ESKY*+/- GPPCPPCP A (or GPPCPSCPA) +/- PEFLGG*PSVFL
Тралокинумаб	Легкая/ SEQ ID NO:369	SYVLTQPPSV SVAPGKTARI TCGGNIIGSK LVHWYQQKPG QAPVLVIYDD GDRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISRVEAG DEADYYCQVW DTGSDPVVFG GGTKLTVLGQ PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Немолизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 370	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT GYIMNWVRQA PGQGLEWMGL INPYNGGTDY NPQFQDRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARDG YDDGPYTLET WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSNFGTQ TYTCNVDHKP SNTKVDKTVERK SCVE +/- CPPCPA +/-P PVAG
Немолизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 371	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASEDIY SFVAWYQQKP GKAPKLLIYN AQTEAQGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYDSPLTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Омализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 372	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGYSIT SGYSWNWIRQ APGKGLEWVA SITYDGSTNY ADSVKGRFTI SRDDSKNTFY LQMNSLRAED TAVYYCARGS HYFGHWHFAV WGQGTLVTVS SGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKA EPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Омализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 373	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSVD YDGDSYMNWY QQKPGKAPKL LIYAASYLES GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDFATY YCQQSHEDPY TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
Тезепелумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO:374	QMQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFR TYGMHWVRQA PGKGLEWVAV IWYDGSNKHY ADSVKGRFTI TRDNSKNTLN LQMNSLRAED TAVYYCARAP QWELVHEAFD IWGQGTMVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSNFGT QTYTCNVDHK PSNTKVDKTV ERKCCVE +/- CPPCPA +/- P PVAG
Тезепелумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 375	SYVLTQPPSV SVAPGQTARI TCGGNNLGSK SVHWYQQKPG QAPVLVVYDD SDRPSWIPER FSGSNSGNTA TLTISRGEAG DEADYYCQVW DSSSDHVVFG GGTKLTVLGQ PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

ТАБЛИЦА 6. Таблица последовательностей нуклеиновых кислот Fab-фрагментов

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Соланезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 71	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGGTACAGCATGAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGCTGGTGGCCCAGATCAAC AGCGTGGGCAACAGCACCTACTACCCCGACACCGTGAAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACAACGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGCGGCGACTACTGGGGCCAG GGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCC CCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTG CCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGC GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Соланезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 72	GACGTGGTGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACCCTGGGCCAGC CCGCCAGCATCAGCTGCAGGAGCAGCCAGAGCCTGATCTACAGCGACGGCAA CGCCTACCTGCACTGGTTCCTGCAGAAGCCCGGCCAGAGCCCCAGGCTGCTG ATCTACAAGGTGAGCAACAGGTTCAGCGGCGTGCCCGACAGGTTCAGCGGCA GCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCAGGGTGGAGGCCGAGGA CGTGGGCGTGTACTACTGCAGCCAGAGCACCCACGTGCCCTGGACCTTCGGC CAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCA TCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTA CGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGC CCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
GSK933776	Тяжелая/ SEQ ID NO: 73	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCC(GCC/GTG)AGCGGCTTCACCTTCAGCGACAACGG CATGGCCTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCTTC ATCAGCAACCTGGCCTACAGCATCGACTACGCCGACACCGTGACCGGCAGGT TCACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAG CCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGTGAGCGGCACCTGGTTC GCCTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGG GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCAC CGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTG AGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC +/- AAGACCC ACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGGCCGGCGCCCCCAGCGTGTTCCTG
GSK933776	Легкая/ SEQ ID NO: 74	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACCCCCGGCGAGC CCGCCAGCATCAGCTGCAGGGTGAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTA CACCTACCTGCACTGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGAGCCCCCAGCTGCTG ATCTACAAGGTGAGCAACAGGTTCAGCGGCGTGCCCGACAGGTTCAGCGGCA GCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCAGGGTGGAGGCCGAGGA CGTGGGCGTGTACTACTGCAGCCAGACCAGGCACGTGCCCTACACCTTCGGC GGCGGCACCAAGGTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCA TCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTA CGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGC CCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
AL-001	Тяжелая/ SEQ ID NO: 75	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAAGTACTACATGAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCATCATCAAC CCCATCGGCGGCAGCACCAGCTACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAGGGTGACCA TGACCAGGGACACCAGCACCAGCACCGTGTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCCCAGCGGCATCGCC CTGGCCGGCCCCGCCAGCAGGGGCTACCAGGGCATGGACGTGTGGGGCCAGG GCACCACCGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCC CCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCT GTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA GGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
AL-001	Легкая/ SEQ ID NO: 76	GAGATCGTGATGACCCAGAGCCCCGCCACCCTGAGCGTGAGCCCCGGCGAGA GGGCCACCCTGAGCTGCAGGGCCAGCCAGAGCGTGAGCAGCAACCTGGCCTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGGCTGCTGATCTACGGCGCCAGC ACCAGGGCCACCGGCATCCCCGCCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG AGTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGGACTTCGCCGTGTACTA CTGCCAGCAGGCCAGGCTGGGCCCCTGGACCTTCGGCGGCGGCACCAAGGTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
ABBV-8E12	Тяжелая/ SEQ ID NO: 77	GAGGTGAAGGTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCA TGAAGCTGAGCTGCGTGGTGAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACTGGGTGAA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCCAGATCAGG CTGAAGAGCGACAACTACGCCACCCACTACGAGGAGAGCGTGAAGGGCAGGT TCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAGCAGCGTGTACCTGCAGATGAACAA CCTGAGGGCCGAGGACAGCGGCATCTACTACTGCACCAACTGGGAGGACTAC TGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCA GCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGGAGCACCAGCGAGAGCACCGCCGC CCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGG AACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGA GCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCT GGGCACCAAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTAC +/- GGCCCCCCCTGCCCCCCCTG CCCCGCC (GGCCCCCCCTGCCCCAGCTGCCCCGCC)+/- CCCGAGTTCCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
ABBV-8E12	Легкая/ SEQ ID NO: 78	GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGACAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGA GGGCCACCATCAGCTGCAGGGCCAGCCAGAGCGTGAGCACCAGCAGGTACAG CTACATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGTTCCCCAAGCTGCTGATC AAGTACGCCAGCAACCTGGAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCG GCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAACATCCACCCCCTGGAGCCCGAGGACTT CGCCACCTACTACTGCCACCACAGCTGGGAGATCCCCCTGACCTTCGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCC

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
UCB-0107	Тяжелая/ SEQ ID NO: 79	GAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCAGCGAGACCC TGAGCCTGACCTGCACCGTGAGCGGCTTCAGCCTGACCAGCAACGACATCGC CTGGATCAGGCAGCCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCACCATCTGG ACCGACGGCAGCACCAACTACAAC(GCC/ACC)GCCGTGCAGAGCAGGGTGA CCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGT GACCGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGCACAGGCTGTACTAC GGCGCCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCATGGTGACCGTGAGCAGCGCCA GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGGAGCACCAG CGAGAGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTAC +/- GGCCCC CCCTGCCCCCCCTGCCCCGCC (GGCCCCCCCTGCCCCAGCTGCCCCGCC) +/- CCCGAGTTCCTGGGCGGCCCCAGCGT GTTCCTG
UCB-0107	Легкая/ SEQ ID NO: 80	GACATCGTGATGACCCAGACCCCCCTGAGCCTGAGCGTGACCCCCGGCCAGC CCGCCAGCATCAGCTGCAGGAGCAGCCAGAGCCTGGAGTACAGCGACGGCTA CACCTACCTGGAGTGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGAGCCCCCAGCTGCTG ATCTACGAGGTGAGCAACAGGTTCAGCGGCGTGCCCGACAGGTTCAGCGGCA GCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCAGGGTGGAGGCCGAGGA CGTGGGCGTGTACTACTGCTTCCAGGCCACCCACAACCCCTACACCTTCGGC CAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCA TCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTA CGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGC CCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
NI-105	Тяжелая/ SEQ ID NO: 81	CAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCGTGGTGCAGCCCGGCAGGAGCC TGAGGGTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGCA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCGTGATCTGG TTCGACGGCAGCAACGAGTTCTACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTTCCAGATGAACAGCCTGAGGGC CGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCTGGGCGCCAGCGTGACC ACCAGCAACGCCGAGAACTTCCACCACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCG TGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAG CAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTAC TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGA GCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGGCCGGCGCCCCCAGC GTGTTCCTG
NI-105	Легкая/ SEQ ID NO: 82	AGCTACGAGCTGACCCAGCCCCCCAGCGTGAGCGTGAGCCCCGGCCAGACCG CCAGGATCACCTGCAGCGGCGACGCCCTGCCCAAGAGGTACGTGTACTGGTA CCAGCAGAAGAGCGGCCAGGCCCCCGTGCTGGTGATCTACGAGGACAGCAAG AGGCCCAGCGGCATCCCCGAGACCTTCAGCGGCAGCAGCAGCGGCACCATGG CCACCCTGACCATCAGCGGCGCCCAGGTGGAGGACGAGGCCGACTACTACTG CTACAGCACCGACAGCAACGGCCACCACTGGGTGTTCGGCGGCGGCACCAAG CTGACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCC CCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		CGACTTCTACCCCGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCC GTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGT ACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAG GAGCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAGACCGTG GCCCCCACCTGCAGC
VX15/2503	Тяжелая/ SEQ ID NO: 83	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACAGCTTCAGCGACTACTACATGCA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCCAGATCAAC CCCACCACCGGCGGCGCCAGCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCA TCACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTACTACTACGGCAGGCAC TTCGACGTGTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCA AGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGGAGCACCAGCGAGAG CACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACC GTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCG TGACCGTGAGCAGCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGT GGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGCAACGTG GACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTAC +/-GGCCCCCCCTGCCCCCCCTGCCCCGCC (GGCCCCCCCTGCCCCAGCTGCCCCGCC) +/- CCCGAGTTCCTGGGCG GCCCCAGCGTGTTCCTG
VX15/2503	Легкая/ SEQ ID NO: 84	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGACAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGA GGGCCACCATCAACTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTGGACTACGACGGCGACAG CTACATGAACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCTGCTGATC TACGCCGCCAGCAACCTGGAGAGCGGCGTGCCCGACAGGTTCAGCGGCAGCG GCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGACCCCTACACCTTCGGCCAG GGCACCAAGCTGGAGATCAAGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGA GGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG GAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA CCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGA GGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
Празинезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 85	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACGGCATGAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCAGCATCAGC AGCGGCGGCGGCAGCACCTACTACCCCGACAACGTGAAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACGACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGCGGCGCCGGCATCGAC TACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGC CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGC TGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGC AGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGCT GGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Празинезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 86	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAAGAGCATCCAGACCCTGCTGTACAGCAGCAACCA GAAGAACTACCTGGCCTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTG CTGATCTACTGGGCCAGCATCAGGAAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCG GCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGA GGACCTGGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCTACCCCCTGACCTTC GGCGGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGT

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		TCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGT GTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGA CTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC AGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
NI-202	Тяжелая/ SEQ ID NO: 87	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAACTACGCCATGCA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGAGGCTGGAGTGGATGGGCTGGATCAAC GCCGGCAACGGCAAGAGGAAGTACAGCCAGAAGTTCCAGGACAGGGTGACCA TCAACAGGGACACCAGCGCCAGCACCATCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGGG CAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGAGGAGGACCACGCCGGC AGCGGCAGCTACCTGAGCATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCG TGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAG CAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTAC TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGA GCTGCGAC +/-AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/-CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTT CCTG
NI-202	Легкая/ SEQ ID NO: 88	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAAGAGCATCCAGACCCTGCTGTACAGCAGCAACCA GAAGAACTACCTGGCCTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTG CTGATCTACTGGGCCAGCATCAGGAAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCG GCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGA GGACCTGGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCTACCCCCTGACCTTC GGCGGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGT TCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGT GTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACA GCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGA CTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC AGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
MEDI-1341/TAK 341	Тяжелая/ SEQ ID NO: 89	GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGC CACCTGGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCGGCGGCGCCAACCACGGCAAG TACTACTACGGCATGGACAAGTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCA GCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG CACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGT GACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCG AC +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGTTCGAGGGCGGCCCCAGCG TGTTCCTG
MEDI-1341/TAK 341	Легкая/ SEQ ID NO: 90	CAGGCCGTGCTGACCCAGCCCGCCAGCCTGAGCGCCAGCCCCGGCGCCAGCG CCAGCCTGACCTGCACCCTGAGGAGCGGCGCCCCCCTGCCCAAGTACAGGAT CTACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAGCCCCCCCCAGTACCTGCTGAGGTAC AAGAGCGACGCCGACAAGCACCAGGGCAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCG GCAGCAAGGACGCCAGCGCCAACGCCGGCATCCTGCTGATCAGCGGCCTGCA

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		GAGCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCATGGTGTGGGACCACGGCGTGTGG TACTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCCC CCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGC CACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCCGGCGCCGTGACCGTGGCC TGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCA GCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCC CGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGAGCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGC AGCACCGTGGAGAAGACCGTGGCCCCCACCGAGTGCAGC
NI-204.10D12	Тяжелая/ SEQ ID NO: 91	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGACCTGGTGAGGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGTGGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACTGGATGCA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGAGGCCCGTGTGGGTGAGCAGGACCAAC ACCGACGGCAGGAACACCGCCTACGCCGACTACGCCAAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACAACGCCAAGAGCACCCTGTACCTGCAGCTGAACAGCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTTCTGCGCCAGGCTGAGGAGGAACGTGGCC GACCAGATCACCCACAACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCTGG TGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCC CAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAG GACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCA GCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCT GAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGC CCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGGCCGCCGGCGGCCCCAGC GTGTTCCTG
NI-204.10D12	Легкая/ SEQ ID NO: 92	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCGCCTGCAGGGCCAGCCAGAGCGTGGGCACCTACCTGAACTGGTA CCAGCAGAAGAGGGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTTCGCCGCCAGCAGC CTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACT TCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTG CCAGCAGAGCTACAGCAGCCCCCCCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAG ATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACG AGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTA CCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGC AACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCC TGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTA CGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
NI-204.12G7	Тяжелая/ SEQ ID NO: 93	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCAGCG TGACCCTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGCCTACTACATCCA CTGGGTGAGGCAGGCCAGGGAGCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGTGATCAAC CCCAGCACCGGCACCACCTTCTACGCCCAGAACTTCCCCGACAGGGTGAGCG TGACCAGGGACACCAGCACCAGCACCGTGTTCATGGAGCTGCACAACCTGAA GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGCCATCAGCGAGCACGGC AGCGGCAGCTACAGCCCCTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGA GCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAA GAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGT GGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCT GCGAC +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGGCCGCCGGCGGCCCCAGCGT GTTCCTG
NI-204.12G7	Легкая/ SEQ ID	AGCTACGAGCTGACCCAGCCCCCCAGCGTGAGCGTGAGCCTGGGCCAGATGG CCGCCATCACCTGCAGCGGCGAGGCCCTGCCCAAGAAGTACGGCTACTGGTA CCAGCAGAAGCCCGGCCAGGTGCCCGTGCTGCTGATCTACAGGGACGTGGAG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	NO: 94	AGGCCCAGCGGCGTGCCCGACAGGTTCAGCGGCAGCAGCAGCGGCACCATGG TGACCCTGACCATCAGCGGCGTGCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTG CCTGAGCGCCGACAGCAGCGGCACCTGGGTGTTCGGCGGCGGCACCAAGCTG ACCGTGCTG
Эптинезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 95	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGTGAGCGGCATCGACCTGAGCGGCTACTACATGAA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGGCGTGATCGGC ATCAACGGCGCCACCTACTACGCCAGCTGGGCCAAGGGCAGGTTCACCATCA GCAGGGACAACAGCAAGACCACCGTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGC CGAGGACACCGCCGTGTACTTCTGCGCCAGGGGCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCC TGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCT GGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCC CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGT ACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACGCCAGG GTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGACCCTG
Эптинезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 96	CAGGTGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGG TGACCATCAACTGCCAGGCCAGCCAGAGCGTGTACCACAACACCTACCTGGC CTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGTGCCCAAGCAGCTGATCTACGACGCC AGCACCCTGGCCAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCA CCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACGTGGCCACCTA CTACTGCCTGGGCAGCTACGACTGCACCAACGGCGACTGCTTCGTGTTCGGC GGCGGCACCAAGGTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCA TCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTA CGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGC CCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
Фреманезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 97	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACTGGATCAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGG AGCGAGAGCGACGCCAGCGCCACCCACTACGCCGAGGCCGTGAAGGGCAGGT TCACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAG CCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCTGGCCTACTTCGACTAC GGCCTGGCCATCCAGAACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCA GCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGGAG CACCAGCGAGAGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGT GACCGTGCCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGGAC CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGAGGAAGTGCTGCG TGGAG +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCCCCGTGGCCGGC
Фреманезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 98	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCACCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGA GGGCCACCCTGAGCTGCAAGGCCAGCAAGAGGGTGACCACCTACGTGAGCTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGGCTGCTGATCTACGGCGCCAGC AACAGGTACCTGGGCATCCCCGCCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGGAGCCCGAGGACTTCGCCGTGTACTA CTGCAGCCAGAGCTACAACTACCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Галканезумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 99	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCGGCAACTACTGGATGCA GTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGCCATCTAC GAGGGCACCGGCAAGACCGTGTACATCCAGAAGTTCGCCGACAGGGTGACCA TCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGCTGAGCGACTACGTGAGC GGCTTCGGCTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCA CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGGAGCACCAGCGA GAGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCC CAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTAC +/- GGCCCCCCC TGCCCCCCCTGCCCCGCC (GGCCCCCCCCTGCCCCAGCTGCCCCGCC) +/- CCCGAGGCCGCCGGCGGCCCCAGCGTGTTC CTG
Галканезумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 100	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCAAGGACATCAGCAAGTACCTGAACTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACACCAGC GGCTACCACAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTA CTGCCAGCAGGGCGACGCCCTGCCCCCCACCTTCGGCGGCGGCACCAAGGTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Севацизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 101	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGAAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCAGCTTCAGCAACAACGACGTGAT GTGCTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTGCATC ATGACCACCGACGTGGTGACCGAGTACGCCAACTGGGCCAAGAGCAGGTTCA CCGTGAGCAGGGACAGCGCCAAGAACAGCGTGTACCTGCAGATGAACAGCCT GAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTTCTGCGCCAGGGACAGCGTGGGCAGC CCCCTGATGAGCTTCGACCTGTGGGGCCCCGGCACCCTGGTGACCGTGAGCA GCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG CACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGT GACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCG AC +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/-CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTT CCTG
Севацизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 102	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCAACTGCCAGGCCAGCCAGAGCATCTACAACAACAACGAGCT GAGCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGCCCCCCAAGCTGCTGATCTACAGG GCCAGCACCCTGGCCAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCG GCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACGTGGCCAC CTACTACTGCGGCGGCTACAAGAGCTACAGCAACGACGGCAACGGCTTCGGC GGCGGCACCAAGGTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCA TCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		CCTGCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTA CGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGC CCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
LKA-651/NVS2	Тяжелая/ SEQ ID NO: 103	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGAGAGCC TGAAGATCAGCTGCAAGGGCAGCGGCTACAGCTTCACCAGCTACTGGATCGG CTGGGTGAGGCAGATGCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATCGAC CCCTACAGGAGCGAGATCAGGTACAGCCCCAGCTTCCAGGGCCAGGTGACCA TCAGCGCCGACAAGAGCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAA GGCCAGCGACACCGCCATGTACTACTGCGCCAGGGTGAGCAGCGAGCCCTTC GACAGCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGG GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCAC CGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTG AGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC +/- AAGACCCA CACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
LKA-651/NVS2	Легкая/ SEQ ID NO: 104	AGCTACGTGCTGACCCAGCCCCCCAGCGTGAGCGTGGCCCCCGGCAAGACCG CCAGGATCACCTGCAGCGGCGACAAGCTGGGCGACCACTACGCCTACTGGTA CCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCGTGCTGGTGATCTACGACGACAGCAAG AGGCCCAGCGGCATCCCCGAGAGGTTCAGCGGCAGCAACAGCGGCAACACCG CCACCCTGACCATCAGCAGGGTGGAGGCCGGCGACGAGGCCGACTACTACTG CGCCACCTGGACCTTCGAGGGCGACTACGTGTTCGGCGGCGGCACCAAGCTG ACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCA GCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGA CTTCTACCCCGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTG AAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACG CCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGAG CTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAGACCGTGGCC CCCACCGAGTGCAGC
LKA-651/NVS3	Тяжелая/ SEQ ID NO: 105	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCAGCCAGACCC TGAGCCTGACCTGCGCCATCAGCGGCGACAGCGTGAGCAGCAACACCGCCGC CTGGAACTGGATCAGGCAGAGCCCCAGCAGGGGCCTGGAGTGGCTGGGCGTG ATCTACTACAGGAGCAAGTGGTACAACGACTACGCCGTGAGCGTGAAGAGCA GGATCACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGCAGCTGAA CAGCGTGACCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGAGCGTGCCC GGCGGCGACCCCGGCCTGGAGCACGCCTTCGCCTACTGGGGCAGGGGCACCC TGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGC CCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTG AAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGG AGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAG CGTGTTCCTG
LKA-651/NVS3	Легкая/ SEQ ID NO: 106	AGCTACGTGCTGACCCAGCCCCCCAGCGTGAGCGTGGCCCCCGGCAAGACCG CCAGGATCACCTGCAGCGGCGACAACCTGGGCACCTACTACGTGGAGTGGTA CCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCGTGCTGGTGATCTACGACGACAGCGAC AGGCCCAGCGGCATCCCCGAGAGGTTCAGCGGCAGCAACAGCGGCAACACCG CCACCCTGACCATCAGCAGGGTGGAGGCCGGCGACGAGGCCGACTACTACTG CGCCAGCTTCGCCAGCTGGAGCGACAGCGTGTTCGGCGGCGGCACCAAGCTG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		ACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCA GCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGA CTTCTACCCCGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCGTG AAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACG CCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGAG CTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAGACCGTGGCC CCCACCGAGTGCAGC
Аскринвакумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 107	ACCTGCACCGTGAGCGGCGGCAGCATCAGCAGCGGCGAGTACTACTGGAACT GGATCAGGCAGCACCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTACATCTACTA CAGCGGCAGCACCTACTACAACCCCAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGC GTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACCGCCG CCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGAGAGCGTGGCCGGCTTCGACTA CTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCC AGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAGGAGCACCAGCGAGAGCACCGCCG CCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTG GAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAG AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAACT TCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGACCGTGGAGAGGAAGTGCTGCGTGGAG +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCCCCGTGGCCGGC
Аскринвакумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 108	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGGCACCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGA GGGCCACCCTGAGCTGCAGGGCCAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTACCTGGC CTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGGCTGCTGATCTACGGCACC AGCAGCAGGGCCACCGGCATCCCCGACAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCA CCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGGCTGGAGCCCGAGGACTTCGCCGTGTA CTACTGCCAGCAGTACGGCAGCAGCCCCATCACCTTCGGCCAGGGCACCAGG CTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCA GCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAA CTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAG AGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAG AGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
Тезидолумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 109	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCGGCACCTTCAGCAGCTACGCCATCAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGGCATCGGC CCCTTCTTCGGCACCGCCAACTACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAGGGTGACCA TCACCGCCGACGAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACACCCCCTACTTCGAC TACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGC CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGC TGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGC AGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGGCCGCCGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Тезидолумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 110	AGCTACGAGCTGACCCAGCCCCTGAGCGTGAGCGTGGCCCTGGGCCAGACCG CCAGGATCACCTGCAGCGGCGACAGCATCCCCAACTACTACGTGTACTGGTA CCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCGTGCTGGTGATCTACGACGACAGCAAC AGGCCCAGCGGCATCCCCGAGAGGTTCAGCGGCAGCAACAGCGGCAACACCG CCACCCTGACCATCAGCAGGGCCCAGGCCGGCGACGAGGCCGACTACTACTG CCAGAGCTTCGACAGCAGCCTGAACGCCGAGGTGTTCGGCGGCGGCACCAAG CTGACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCC

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		CCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAG CGACTTCTACCCCGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCC GTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGT ACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAG GAGCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAGACCGTG GCCCCCACCGAGTGCAGC
Каротуксимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 111	GAGGTGAAGCTGGAGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCA TGAAGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACGCCTGGATGGA CTGGGTGAGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGG AGCAAGGCCAGCAACCACGCCACCTACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGCAGGT TCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAGCAGCGTGTACCTGCAGATGAACAG CCTGAGGGCCGAGGACACCGGCATCTACTACTGCACCAGGTGGAGGAGGTTC TTCGACAGCTGGGGCCAGGGCACCACCCTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCA AGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGG CACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACC GTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAG CAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTC CTG
Каротуксимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 112	CAGATCGTGCTGAGCCAGAGCCCCGCCATCCTGAGCGCCAGCCCCGGCGAGA AGGTGACCATGACCTGCAGGGCCAGCAGCAGCGTGAGCTACATGCACTGGTA CCAGCAGAAGCCCGGCAGCAGCCCCAAGCCCTGGATCTACGCCACCAGCAAC CTGGCCAGCGGCGTGCCCGTGAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCAGCT ACAGCCTGACCATCAGCAGGGTGGAGGCCGAGGACGCCGCCACCTACTACTG CCAGCAGTGGAGCAGCAACCCCCTGACCTTCGGCGCCGGCACCAAGCTGGAG CTGAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACG AGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTA CCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGC AACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCC TGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTA CGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
ANX-007	Тяжелая/ SEQ ID NO: 113	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGCTGAAGAAGCCCGGCGCCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGAGCAGCGGCTACCACTTCACCAGCTACTGGATGCA CTGGGTGAAGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGTGATCCAC CCCAACAGCGGCAGCATCAACTACAACGAGAAGTTCGAGAGCAGGGTGACCA TCACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCGGCGAGAGGGACAGCACCGAG GTGCTGCCCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGCG CCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCAC CAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAG CCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+ /- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTT CCTG
ANX-007	Легкая/ SEQ ID NO: 114	GACGTGCAGATCACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCCTGGGCGAGA GGGCCACCATCAACTGCAGGGCCAGCAAGAGCATCAACAAGTACCTGGCCTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGGCAGC ACCCTGCAGAGCGGCATCCCCGCCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGGAGCCCGAGGACTTCGCCATGTACTA

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		CTGCCAGCAGCACAACGAGTACCCCCTGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Адалимумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 115	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCAGGAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCGCCATCACC TGGAACAGCGGCCACATCGACTACGCCGACAGCGTGGAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGGTGAGCTACCTGAGCACC GCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCG CCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCAC CAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAG CCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+ /- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTT CCTG
Адалимумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 116	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCCAGGGCATCAGGAACTACCTGGCCTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGC ACCCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACGTGGCCACCTACTA CTGCCAGAGGTACAACAGGGCCCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Инфликсимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 117	GAGGTGAAGCTGGAGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCA TGAAGCTGAGCTGCGTGGCCAGCGGCTTCATCTTCAGCAACCACTGGATGAA CTGGGTGAGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGG AGCAAGAGCATCAACAGCGCCACCCACTACGCCGAGAGCGTGAAGGGCAGGT TCACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAGCGCCGTGTACCTGCAGATGACCGA CCTGAGGACCGAGGACACCGGCGTGTACTACTGCAGCAGGAACTACTACGGC AGCACCTACGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCCTGACCGTGAGCAGCGCCA GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAG CGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCG TGTTCCTG
Инфликсимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 118	GACATCCTGCTGACCCAGAGCCCCGCCATCCTGAGCGTGAGCCCCGGCGAGA GGGTGAGCTTCAGCTGCAGGGCCAGCCAGTTCGTGGGCAGCAGCATCCACTG GTACCAGCAGAGGACCAACGGCAGCCCCAGGCTGCTGATCAAGTACGCCAGC

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		GAGAGCATGAGCGGCATCCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGAGCATCAACACCGTGGAGAGCGAGGACATCGCCGACTACTA CTGCCAGCAGAGCCACAGCTGGCCCTTCACCTTCGGCAGCGGCACCAACCTG GAGGTGAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Голимумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 119	AGCAAGCTGCAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCGTGGTGCAGCCCG GCAGGAGCCTGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCATCTTCAGCAGCTA CGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAACGGCCTGGAGTGGGTGGCC TTCATGAGCTACGACGGCAGCAACAAGAAGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCA GGTTCACCATCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAA CAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACAGGGGC ATCGCCGCCGGCGGCAACTACTACTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCCAGG GCACCACCGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCC CCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCT GTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTG CTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Голимумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 120	GCCGGCAGCGAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCACCCTGAGCCTGAGCC CCGGCGAGAGGGCCACCCTGAGCTGCAGGGCCAGCCAGAGCGTGTACAGCTA CCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGGCTGCTGATCTAC GACGCCAGCAACAGGGCCACCGGCATCCCCGCCAGGTTCAGCGGCAGCGGCA GCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGGAGCCCGAGGACTTCGC CGTGTACTACTGCCAGCAGAGGAGCAACTGGCCCCCCTTCACCTTCGGCCCC GGCACCAAGGTGGACATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
Элезанумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 121	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCCACGGCATCAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGACTGGATGGGCTGGATCAGC CCCTACAGCGGCAACACCAACTACGCCCAGAAGCTGCAGGGCAGGGTGACCA TGACCACCGACACCAGCACCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGTGGGCAGCGGCCCCTAC TACTACATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCA GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAG CGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGGCCGCCGGCGGCCCCAGCGTGT TCCTG
Элезанумаб	Легкая/ SEQ ID	CAGAGCGCCCTGACCCAGCCCAGGAGCGTGAGCGGCAGCCCCGGCCAGAGCG TGACCATCAGCTGCACCGGCACCAGCAGCAGCGTGGGCGACAGCATCTACGT

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	NO: 122	GAGCTGGTACCAGCAGCACCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGATGCTGTACGAC GTGACCAAGAGGCCCAGCGGCGTGCCCGACAGGTTCAGCGGCAGCAAGAGCG GCAACACCGCCAGCCTGACCATCAGCGGCCTGCAGGCCGAGGACGAGGCCGA CTACTACTGCTACAGCTACGCCGGCACCGACACCCTGTTCGGCGGCGGCACC AAGGTGACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCC CCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGAT CAGCGACTTCTACCCCGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGC CCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACA AGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCA CAGGAGCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAGACC GTGGCCCCCACCGAGTGCAGC
NI-301	Тяжелая/ SEQ ID NO: 123	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCAGCGAGACCC TGAGCCTGACCTGCAGCGTGAGCGGCGGCAGCATCATCAGCAGGAGCAGCTA CTGGGGCTGGATCAGGCAGCCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGGC ATCTACCACAGCGGCAACACCTACGACAACCCCAGCCTGAAGAGCAGGCTGA CCATGAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAACCTGAGGAGCGT GACCGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGATCGTGCCCGGCGGC GACGCCTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACCATGGTGACCGTGAGCAGCGCCA GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAG CGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCC GTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTG TTCCTG
NI-301	Легкая/ SEQ ID NO: 124	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCGCCTGCAGGGCCAGCCAGAGCGTGGGCACCTACCTGAACTGGTA CCAGCAGAAGAGGGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTTCGCCGCCAGCAGC CTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACT TCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTG CCAGCAGAGCTACAGCAGCCCCCCCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAG ATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACG AGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTA CCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGC AACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCC TGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTA CGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
PRX-004	Тяжелая/ SEQ ID NO: 125	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGATCCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACGCCATGAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGC AGCGGCGGCAGCACCTACTACCCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCACCATCA GCAGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGC CGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTACTACTACGGCCAGTACTTC GACTTCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGG GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCAC CGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTG AGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTT CCTG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
PRX-004	Легкая/ SEQ ID NO: 126	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAAGGCCAGCCAGGACGTGAGCACCACCGTGGCCTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCAGC TACAGGAGCACCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCGTGTACTA CTGCCAGCAGCACTACAGCACCCCCCTGACCTTCGGCGGCGGCACCAAGGTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Памревлумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 127	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCAGCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCGGCACCTTCAGCAGCTACGCCATCAG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGGCATCGGC CCCTTCTTCGGCACCGCCAACTACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAGGGTGACCA TCACCGCCGACGAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACACCCCCTACTTCGAC TACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGC CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGC TGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGC AGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGGCCGCCGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Памревлумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 128	AGCTACGAGCTGACCCAGCCCCTGAGCGTGAGCGTGGCCCTGGGCCAGACCG CCAGGATCACCTGCAGCGGCGACAGCATCCCCAACTACTACGTGTACTGGTA CCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCGTGCTGGTGATCTACGACGACAGCAAC AGGCCCAGCGGCATCCCCGAGAGGTTCAGCGGCAGCAACAGCGGCAACACCG CCACCCTGACCATCAGCAGGGCCCAGGCCGGCGACGAGGCCGACTACTACTG CCAGAGCTTCGACAGCAGCCTGAACGCCGAGGTGTTCGGCGGCGGCACCAAG CTGACCGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCGCCCCCAGCGTGACCCTGTTCCCCC CCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAG CGACTTCTACCCCGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCC GTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGT ACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAG GAGCTACAGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAGAAGACCGTG GCCCCCACCGAGTGCAGC
Сатрализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 129	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCAGCGAGACCC TGAGCCTGACCTGCGCCGTGAGCGGCCACAGCATCAGCCACGACCACGCCTG GAGCTGGGTGAGGCAGCCCCCCGGCGAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTTCATC AGCTACAGCGGCATCACCAACTACAACCCCAGCCTGCAGGGCAGGGTGACCA TCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGAGCCTGGCCAGGACCACC GCCATGGACTACTGGGGCGAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCA CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGG CGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCG CCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCC CAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGAGGAAGAGCTGCGTGGAG +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCCCCGTGGCCGGC
Сатрализумаб	Легкая/	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	SEQ ID NO: 130	GCGTGACCATCACCTGCCAGGCCAGCACCGACATCAGCAGCCACCTGAACTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCGAGCTGCTGATCTACTACGGCAGC CACCTGCTGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCTTCACCATCAGCAGCCTGGAGGCCGAGGACGCCGCCACCTACTA CTGCGGCCAGGGCAACAGGCTGCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTG GAGATCGAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Сарилумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 131	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCAGGAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCAGGTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCGGCATCAGC TGGAACAGCGGCAGGATCGGCTACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACAACGCCGAGAACAGCCTGTTCCTGCAGATGAACGGCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCCTGTACTACTGCGCCAAGGGCAGGGACAGCTTCGAC ATCTGGGGCCAGGGCACCATGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACCGC CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGC TGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGC AGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Сарилумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 132	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCGTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAGCTGGCTGGCCTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGC AGCCTGGAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCAGCTACTA CTGCCAGCAGGCCAACAGCTTCCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Инебилизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 133	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCAGCTGGATGAA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGGCAGGATCTAC CCCGGCGACGGCGACACCAACTACAACGTGAAGTTCAAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACGACAGCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAA GACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGAGCGGCTTCATCACCACC GTGAGGGACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCG CCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCAC CAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAG CCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCT TCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+ /- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGT TCCTG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Инебилизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 134	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGACTTCCAGAGCGTGACCCCCAAGGAGA AGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCGAGAGCGTGGACACCTTCGGCATCAG CTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGACCAGAGCCCCAAGCTGCTGATC CACGAGGCCAGCAACCAGGGCAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCG GCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAACAGCCTGGAGGCCGAGGACGC CGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGAGGTGCCCTTCACCTTCGGCGGC GGCACCAAGGTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
Этролизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 135	GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCTTCATCACCAACAACTACTGGGG CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGGCTACATCAGC TACAGCGGCAGCACCAGCTACAACCCCAGCCTGAAGAGCAGGTTCACCATCA GCAGGGACACCAGCAAGAACACCTTCTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGC CGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGACCGGCAGCAGCGGCTACTTC GACTTCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGG GCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCAC CGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTG AGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGT TCCTG
Этролизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 136	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCGAGAGCGTGGACGACCTGCTGCACTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCAAGTACGCCAGC CAGAGCATCAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTA CTGCCAGCAGGGCAACAGCCTGCCCAACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Ромосозумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 137	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCAGCG TGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACAACATGCA CTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGAGATCAAC CCCAACAGCGGCGGCGCCGGCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAGGGTGACCA TGACCACCGACACCAGCACCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAG GAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGCTGGGCTACGACGACATC TACGACGACTGGTACTTCGACGTGTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGA GCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTGCAGCAG GAGCACCAGCGAGAGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTC CCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGT GGTGACCGTGCCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTG GACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGAGGAAGTGCT GCGTGGAG+/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCCCCGTGGCCGGC

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Ромосозумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 138	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCCAGGACATCAGCAACTACCTGAACTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACACCAGC AGGCTGCTGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTA CTGCCAGCAGGGCGACACCCTGCCCTACACCTTCGGCGGCGGCACCAAGGTG GAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTT CTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGT GTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
Ланаделумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 139	GAGGTGCAGCTGCTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCC TGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCCACTACATCATGAT GTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCGGCATCTAC AGCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGGTTCACCA TCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAG GGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACAGGAGGATCGGCGTGCCC AGGAGGGACGAGTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACCATGGTGACCGTGAGCA GCGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG CACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGT GACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCCAAGAGCTGCG AC+/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGT TCCTG
Ланаделумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 140	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCACCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACA GGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTGGCTGGCCTG GTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGC ACCCTGGAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCG AGTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTA CTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAG ATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACG AGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTA CCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGC AACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCC TGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTA CGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTC AACAGGGGCGAGTGC
Ланаделумаб L01	SEQ ID NO: 141	ATGTACCGGATGCAGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCA CCAATAGCGAAGTCCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTTGTTCAACCTGG CGGCTCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCCACTAT ATCATGATGTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCG GCATCTATAGCAGCGGCGGCATCACAGTGTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAG ATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTATAGAAGAATCG GCGTGCCCAGACGGGACGAGTTCGATATTTGGGGCCAGGGCACCATGGTCAC CGTGTCTAGCGCCTCTACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTAGC AGCAAGAGCACAAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACT ACTTTCCCGAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAATAGCGGAGCACTGACAAGCGG CGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAAAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGC AGCGTGGTCACAGTGCCAAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAACCCAA

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		GAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTC GGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGA TCAGCAGAACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGA TCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCC AAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACAGAGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAA GGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCC AAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCCGGGAAG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGGCTTCTACCC TTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCAGAGAACAACTAC AAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCA AGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAG CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGTCTGAGCCTG TCTCCAGGCCTGCGGAAGAGAAGGGCTCCTGTGAAGCAGACCCTGAACTTCG ACCTGCTGAAACTGGCCGGCGACGTGGAAAGCAACCCCGGACCTATGTATAG AATGCAGCTCCTCCTGCTGATCGCACTGAGCCTGGCTCTCGTGACCAACAGC GACATCCAGATGACACAGAGCCCCAGCACACTGTCTGCCAGCGTGGGAGACA GAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGTCCATCTCCTCTTGGCTGGCCTG GTATCAGCAAAAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACAAGGCCTCC ACACTGGAAAGCGGGGTGCCCTCCAGATTTTCTGGCAGCGGATCTGGCACCG AGTTCACCCTGACCATCAGTAGCCTGCAGCCTGACGACTTCGCCACCTACTA CTGCCAGCAGTACAATACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGAACAAAGGTGGAA ATCAAGCGGACTGTGGCCGCTCCAAGCGTGTTCATCTTTCCACCTAGCGACG AGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTA CCCCAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGC AACTCCCAAGAGAGCGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCC TGTCTAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTA TGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTTAGCTCTCCAGTGACCAAGAGCTTC AACCGGGGCGAGTGTTGATAA
Силтуксимаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 343	gaagtgcagctggtggaaagcggcggcaaactgctgaaaccgggcggcagcc tgaaactgagctgcgcggcgagcggctttacctttagcagctttgcgatgag ctggtttcgccagagcccggaaaaacgcctggaatgggtggcggaaattagc agcggcggcagctatacctattatccggataccgtgaccggccgctttacca ttagccgcgataacgcgaaaaacaccctgtatctggaaatgagcagcctgcg cagcgaagataccgcgatgtattattgcgcgcgcggcctgtggggctattat gcgctggattattggggccagggcaccagcgtgaccgtgagcagcgcgagca ccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcagcaaaagcaccagcgg cggcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccggaaccggtg accgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcatacctttccgg cggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgcc gagcagcagcctgggcacccagacctatatttgcaacgtgaaccataaaccg agcaacaccaaagtggataaaaaagtggaaccgaaaagctgcgat +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Силтуксимаб	Легкая/ SEQ ID NO: 344	cagattgtgctgattcagagcccggcgattatgagcgcgagcccgggcgaaa aagtgaccatgacctgcagcgcgagcagcagcgtgagctatatgtattggta tcagcagaaaccgggcagcagcccgcgcctgctgatttatgataccagcaac ctggcgagcggcgtgccggtgcgctttagcggcagcggcagcggcaccagct atagcctgaccattagccgcatggaagcggaagatgcggcgacctattattg ccagcagtggagcggctatccgtatacctttggcggcggcaccaaactggaa attaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcgatg aacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaacttttta tccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagcggc aacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctatagcc tgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagtgta

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		tgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagctttaaccgcggcgaatgc
Клазакизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 345	gaagtgcagctggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgagcggctttagcctgagcaactattatgtgacctgggtgcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtgggcattatttatggcagcgatgaaaccgcgtatgcgaccagcgcgattggccgctttaccattagccgcgataacagcaaaaacaccctgtatctgcagatgaacagcctgcgcgcggaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcgatgatagcagcgattgggatgcgaaatttaacctgtggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcgcgagcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcagcaaaagcaccaggcggcggcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccggaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcataccttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccgagcagcagcctgggcacccagacctatatttgcaacgtgaaccataaaccgagcaacaccaaagtggataaacgcgtggaaccgaaaagctgcgat +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Клазакизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 346	gcgattcagatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattacctgccaggcgagccagagcattaacaacgaactgagctggtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctgatttatcgcgcgagcaccctggcgagcggcgtgccgagccgctttagcggcagcggcagcggcaccgatttttaccctgaccattagcagcctgcagccggatgattttgcgacctattattgccagcagggctatagcctgcgcaacattgataacgcgtttggcggcggcaccaaagtggaaattaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcgatgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaacttttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctatagcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagtgtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagctttaaccgcggcgaatgcgaaccgaaaagctgcgat +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Сирукумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 347	Gaagtgcagctggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgagcggctttacctttagcccgtttgcgatgagctgggtgcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtggcgaaaattagcccgggcggcagctggacctattatagcgataccgtgaccggccgctttaccattagccgcgataacgcgaaaaacagcctgtatctgcagatgaacagcctgcgcgcggaagataccgcggtgtattattgcgcgcgccagctgtggggctattatgcgctggatatttggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagcgcgagccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcagcaaaagcaccagcggcggcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccggaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcataccttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccgagcagcagcctgggcacccagacctatatttgcaacgtgaaccataaaccgagcaacaccaaagtggataaaaaagtggaaccgaaaagctgcgat +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Сирукумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 348	gaaattgtgctgacccagagcccggcgaccctgagcctgagcccgggcgaacgcgcgaccctgagctgcagcgcgagcattagcgtgagctatatgtattggtatcagcagaaaccgggccaggcgccgcgcctgctgatttatgatatgagcaacctggcgagcggcattccggcgcgctttagcggcagcggcagcggcaccgatttaccctgaccattagcagcctggaaccggaagattttgcggtgtattattgcatgcagtggagcggctatccgtatacctttggcggcggcaccaaagtggaa

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		attaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcgatg aacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaacttttta tccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagcggc aacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctatagcc tgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagtgta tgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagcttt aaccgcggcgaatgc
Олокизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 349	Gaagtgcagctggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcc tgcgcctgagctgcgcggcgagcggctttaactttaacgattattttatgaa ctgggtgcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtggcgcagatgcgc aacaaaaactatcagtatggcacctattatgcggaaagcctggaaggccgct ttaccattagccgcgatgatagcaaaaacagcctgtatctgcagatgaacag cctgaaaaccgaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcgaaagctattat ggctttaccagctattggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcgcga gcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgtgcagccgcagcaccag cgaaagcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccggaaccg gtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcatacctttc cggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgt gccgagcagcagcctgggcaccaaaacctatacctgcaacgtggatcataaa ccgagcaacaccaaagtggataaacgcgtgGAGAGCAAGTAC +/- GGCCCCCCCTGCCCCCCCTG CCCCGCC (GGCCCCCCCTGCCCCAGCTGCCCCGCC)+/- CCCGAGTTCCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Олокизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 350	gatattcagatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatc gcgtgaccattacctgccaggcgagccaggatattggcattagcctgagctg gtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctgatttataacgcgaac aacctggcggatggcgtgccgagccgctttagcggcagcggcagcggcaccg attttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcgacctatta ttgcctgcagcataacagcgcgccgtatacctttggccagggcaccaaactg gaaattaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcg atgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaactt ttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagc ggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctata gcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagt gtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagc tttaaccgcggcgaatgc
Герилимзумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 351	Gaagtgcagctgcaggaaagcggcccgggcctggtgaaaccgagccagaccc tgagcctgacctgcaccgtgagcggcggcagcattaccagccgctattatgc gtggagctggattcgccagccgccgggcaaaggcctggaatggattggcgtg attgattatgatggcgatacctattatagcccgagcctgaaaagccgcgtga gcattagctgggataccagcaaaaaccagtttagcctgaaactgagcagcgt gaccccggcggataccgcggtgtattattgcgcgcgcgatccggatgtggtg accggctttcattatgattattggggccagggcaccatggtgaccgtgagca gcgcgagcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcagcaaaag caccagcggcggcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccg gaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcata cctttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggt gaccgtgccgagcagcagcctgggcacccagacctatatttgcaacgtgaac cataaaccgagcaacaccaaagtggataaaaaagtggaaccgaaaagctgcg at +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Герилимзумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 352	cagagcgcgctgacccagccgccgagcgtgagcggcaccccgggccagagcg tgaccattagctgcgcgggcgcgaacaacgatattggcacctatgcgtatgt gagctggtatcagcagctgccgggcaccgcgccgaaactgatgatttataaa gtgaccacccgcgcgagcggcattccggatcgctttagcggcagcaaaagcg

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		gcaacaccgcgagcctgaccattagcggcctgcaggcggaagatgaagcgga ttattattgcgcgagctatcgcaactttaacaacgcggtgtttggcaccggc accaaactgaccgtgctgggccagccgaaagcggcgccgagcgtgaccctgt ttccgccgagcagcgaagaactgcaggcgaacaaagcgaccctggtgtgcct gattagcgatttttatccgggcgcggtgaccgtggcgtggaaagcggatagc agcccggtgaaagcgggcgtggaaaccaccaccccgagcaaacagagcaaca acaaatatgcggcgagcagctatctgagcctgaccccggaacagtggaaaag ccatcgcagctatagctgccaggtgacccatgaaggcagcaccgtggaaaaa accgtggcgccgaccgaatgcagc
Тоцилизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 353	Caggtgcagctgcaggaaagcggcccgggcctggtgcgcccgagccagaccc tgagcctgacctgcaccgtgagcggctatagcattaccagcgatcatgcgtg gagctgggtgcgccagccgccgggccgcggcctggaatggattggctatatt agctatagcggcattaccacctataacccgagcctgaaaagccgcgtgacca tgctgcgcgataccagcaaaaaccagtttagcctgcgcctgagcagcgtgac cgcggcggataccgcggtgtattattgcgcgcgcagcctggcgcgcaccacc gcgatggattattggggccagggcagcctggtgaccgtgagcagcgcgagca ccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcagcaaaagcaccagcgg cggcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccggaaccggtg accgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcatacctttccgg cggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgcc gagcagcagcctgggcacccagacctatatttgcaacgtgaaccataaaccg agcaacaccaaagtggataaaaaagtggaaccgaaaagctgcgat +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Тоцилизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 354	gatattcagatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatc gcgtgaccattacctgccgcgcgagccaggatattagcagctatctgaactg gtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctgatttattataccagc cgcctgcatagcggcgtgccgagccgctttagcggcagcggcagcggcaccg attttacctttaccattagcagcctgcagccggaagatattgcgacctatta ttgccagcagggcaacaccctgccgtatacctttggccagggcaccaaagtg gaaattaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcg atgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaactt ttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagc ggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctata gcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagt gtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagc tttaaccgcggcgaatgc
Лаканемаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 376	Gaagtgcagctggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcc tgcgcctgagctgcagcgcgagcggctttacctttagcagctttggcatgca ttgggtgcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtggcgtatattagc agcggcagcagcaccatttattatggcgataccgtgaaaggccgctttacca ttagccgcgataacgcgaaaaacagcctgtttctgcagatgagcagcctgcg cgcggaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcgaaggcggctattattat ggccgcagctattataccatggattattggggccagggcaccaccgtgaccg tgagcagcgcgagcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcag caaaagcaccagcggcggcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattat tttccggaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcg tgcataccttttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcag cgtggtgaccgtgccgagcagcagcctgggcacccagacctatatttgcaac gtgaaccataaaccgagcaacaccaaagtggataaacgcgtggaaccgaaaa gctgcgat +/- AAGACCC ACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGGCCGGCGCCCCCAGCGTGTTCCTG
Лаканемаб	Легкая/	Gatgtggtgatgacccagagcccgctgagcctgccggtgaccccgggcgcgc

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	SEQ ID NO: 377	cggcgagcattagctgccgcagcagccagagcattgtgcatagcaacggcaa cacctatctggaatggtatctgcagaaaccgggccagagcccgaaactgctg atttataaagtgagcaaccgctttagcggcgtgccggatcgctttagcggca gcggcagcggcaccgattttaccctgcgcattagccgcgtggaagcggaaga tgtgggcatttattattgctttcagggcagccatgtgccgccgacctttggc ccgggcaccaaactggaaattaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgttta tttttccgccgagcgatgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtg cctgctgaacaacttttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggat aacgcgctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagca aagatagcacctatagcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggatta tgaaaaacataaagtgtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagc ccggtgaccaaaagctttaaccgcggcgaatgc
Равулизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 378	caggtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcg tgaaagtgagctgcaaagcgagcggccatatttttagcaactattggattca gtgggtgcgccaggcgccgggccagggcctggaatggatgggcgaaattctg ccgggcagcggccataccgaatataccgaaaactttaaagatcgcgtgacca tgacccgcgataccagcaccagcaccgtgtatatggaactgagcagcctgcg cagcgaagataccgcggtgtattattgcgcgcgctatttttttggcagcagc ccgaactggtattttgatgtgtggggccagggcaccctggtgaccgtgagca gcgcgagcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgtgcagccgcag caccagcgaaagcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccg gaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcata cctttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggt gaccgtgccgagcagcaactttggcacccagacctatacctgcaacgtggat cataaaccgagcaacaccaaagtggataaaaccgtggaacgcaaatgctgcg tggaa +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCCCCGTGGCCGGC
Равализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 379	Gatattcagatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatc gcgtgaccattacctgcggcgcgagcgaaaacatttatggcgcgctgaactg gtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctgatttatggcgcgacc aacctggcggatggcgtgccgagccgctttagcggcagcggcagcggcaccg attttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcgacctatta ttgccagaacgtgctgaacaccccgctgacctttggccagggcaccaaagtg gaaattaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcg atgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaactt ttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagc ggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctata gcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagt gtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagc tttaaccgcggcgaatgc
Бенрализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 380	Gaagtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcg tgaaagtgagctgcaaagcgagcggctatacctttaccagctatgtgattca ttgggtgcgccagcgcccgggccagggcctggcgtggatgggctatattaac ccgtataacgatggcaccaaatataacgaacgctttaaaggcaaagtgacca ttaccagcgatcgcagcaccagcaccgtgtatatggaactgagcagcctgcg cagcgaagataccgcggtgtatctgtgcggccgcgaaggcattcgctattat ggcctgctgggcgattattggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcg cgagcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcagcaaaagcac cagcggcggcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccggaa ccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcatacct ttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgac cgtgccgagcagcagcctgggcacccagacctatatttgcaacgtgaaccat aaaccgagcaacaccaaagtggataaaaaagtggaaccgaaaagctgcgat +/- AAGACCC ACACC (or AAGACCCACCTG) +/-

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGGCCGGCGCCCCCAGCGTGTTCCTG
Бенрализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 381	Gatattcagatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatc gcgtgaccattacctgcggcaccagcgaagatattattaactatctgaactg gtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctgatttatcataccagc cgcctgcagagcggcgtgccgagccgctttagcggcagcggcagcggcaccg attttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcgacctatta ttgccagcagggctataccctgccgtatacctttggccagggcaccaaagtg gaaattaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcg atgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaactt ttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagc ggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctata gcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagt gtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagc tttaaccgcggcgaatgc
Реслизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 382	Gaagtgcagctggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcc tgcgcctgagctgcgcggtgagcggcctgagcctgaccagcaacagcgtgaa ctggattcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtgggcctgatttgg agcaacggcgataccgattataacagcgcgattaaaagccgctttaccatta gccgcgataccagcaaaagcaccgtgtatctgcagatgaacagcctgcgcgc ggaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcgaatattatggctattttgat tattggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcgcgagcaccaaaggcc cgagcgtgtttccgctggcgccgtgcagccgcagcaccagcgaaagcaccgc ggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccggaaccggtgaccgtgagc tggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcatacctttccggcggtgctgc agagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccgagcagcag cctgggcaccaaaacctatacctgcaacgtggatcataaaccgagcaacacc aaagtggataaacgcgtggaaagcaaatat GAGAGCAAGTAC +/- GGCCCCCCCTGCCCCCCCTG CCCCGCC (GGCCCCCCCTGCCCCAGCTGCCCCGCC)+/- CCCGAGTTCCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Раслизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 383	Gatattcagatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatc gcgtgaccattacctgcctggcgagcgaaggcattagcagctatctggcgtg gtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctgatttatggcgcgaac agcctgcagaccggcgtgccgagccgctttagcggcagcggcagcgcgaccg attataccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcgacctatta ttgccagcagagctataaatttccgaacacctttggccagggcaccaaagtg gaagtgaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcg atgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaactt ttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagc ggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctata gcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagt gtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagc tttaaccgcggcgaatgc
Тралокинумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 384	Caggtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcg tgaaagtgagctgcaaagcgagcggctatacctttaccaactatggcctgag ctgggtgcgccaggcgccgggccagggcctggaatggatgggctggattagc gcgaacaacggcgataccaactatggccaggaatttcagggccgcgtgacca tgaccaccgataccagcaccagcaccgcgtatatggaactgcgcagcctgcg cagcgatgataccgcggtgtattattgcgcgcgcgatagcagcagcagctgg gcgcgctggtttttgatctgtggggccgcggcaccctggtgaccgtgagca gcgcgagcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgtgcagccgcag

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		caccagcgaaagcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccg gaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcata cctttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggt gaccgtgccgagcagcagcctgggcaccaaaacctatacctgcaacgtggat cataaaccgagcaacaccaaagtggataaacgcgtg GAGAGCAAGTAC +/- GGCCCCCCCTGCCCCCCCTG CCCCGCC (GGCCCCCCCTGCCCCAGCTGCCCCGCC)+/- CCCGAGTTCCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Тралокинумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 385	Agctatgtgctgacccagccgccgagcgtgagcgtggcgccgggcaaaaccg cgcgcattacctgcggcggcaacattattggcagcaaactggtgcattggta tcagcagaaaccgggccaggcgccggtgctggtgatttatgatgatggcgat cgcccgagcggcattccggaacgctttagcggcagcaacagcggcaacaccg cgaccctgaccattagccgcgtggaagcgggcgatgaagcggattattattg ccaggtgtgggataccggcagcgatccggtggtgtttggcggcggcaccaaa ctgaccgtgctgggccagccgaaagcggcgccgagcgtgaccctgtttccgc cgagcagcgaagaactgcaggcgaacaaagcgaccctggtgtgcctgattag cgatttttatccgggcgcggtgaccgtggcgtggaaagcggatagcagcccg gtgaaagcgggcgtggaaaccaccaccccgagcaaacagagcaacaacaaat atgcggcgagcagctatctgagcctgaccccggaacagtggaaaagccatcg cagctatagctgccaggtgacccatgaaggcagcaccgtggaaaaaaccgtg gcgccgaccgaatgcagc
Немолизумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 386	Caggtgcagctggtgcagagcggcgcggaagtgaaaaaaccgggcgcgagcg tgaaagtgagctgcaaagcgagcggctatacctttaccggctatattatgaa ctgggtgcgccaggcgccgggccagggcctggaatggatgggcctgattaac ccgtataacggcggcaccgattataacccgcagtttcaggatcgcgtgacca ttaccgcggataaaagcaccagcaccgcgtatatggaactgagcagcctgcg cagcgaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcgatggctatgatgatggc ccgtataccctggaaacctggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcg cgagcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcagcaaaagcac cagcggcggcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccggaa ccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcatacct ttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgac cgtgccgagcagcaactttggcacccagacctatacctgcaacgtggatcat aaaccgagcaacaccaaagtggataaaaccgtggaa cgcaaaagctgcgtggaa +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCCCCGTGGCCGGC
Немолизумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 387	Gatattcagatgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatc gcgtgaccattacctgccaggcgagcgaagatatttatagctttgtggcgtg gtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctgatttataacgcgcag accgaagcgcagggcgtgccgagccgctttagcggcagcggcagcggcaccg attttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcgacctatta ttgccagcatcattatgatagcccgctgacctttggcggcggcaccaaagtg gaaattaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatttttccgccgagcg atgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaactt ttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataacgcgctgcagagc ggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctata gcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatgaaaaacataaagt gtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccggtgaccaaaagc tttaaccgcggcgaatgc
Омализумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 388	Gaagtgcagctggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcc tgcgcctgagctgcgcggtgagcggctatagcattaccagcggctatagctg gaactggattcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtggcgagcatt

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		acctatgatggcagcaccaactatgcggatagcgtgaaaggccgctttacca ttagccgcgatgatagcaaaaacacctttttatctgcagatgaacagcctgcg cgcggaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcggcagccattattttggc cattggcattttgcggtgtggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcg gcccgagcgtgtttccgctggcgccgagcagcaaaagcaccagcggcggcac cgcggcgctgggctgcctggtgaaagattatttccggaaccggtgaccgtg agctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcataccttccggcggtgc tgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccgagcag cagcctgggcacccagacctatatttgcaacgtgaaccataaaccgagcaac accaaagtggataaaaaagcg +/- AAGACCCACACC (or AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCGAGCTGGCCGGCGCCCCCAGCGTGTTCCTG
Омализумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 389	Gatattcagctgacccagagcccgagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatc gcgtgaccattacctgccgcgcgagccagagcgtggattatgatggcgatag ctatatgaactggtatcagcagaaaccgggcaaagcgccgaaactgctgatt tatgcggcgagctatctggaaagcggcgtgccgagccgctttagcggcagcg gcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattt tgcgacctattattgccagcagagccatgaagatccgtatacctttggccag ggcaccaaagtggaaattaaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttattt ttccgccgagcgatgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgtggtgtgcct gctgaacaacttttatccgcgcgaagcgaaagtgcagtggaaagtggataac gcgctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaag atagcacctatagcctgagcagcaccctgaccctgagcaaagcggattatga aaaacataaagtgtatgcgtgcgaagtgacccatcagggcctgagcagcccg gtgaccaaaagctttaaccgcggcgaatgc
Тезепелумаб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 390	Cagatgcagctggtggaaagcggcggcggcgtggtgcagccgggccgcagcc tgcgcctgagctgcgcggcgagcggctttacctttcgcacctatggcatgca ttgggtgcgccaggcgccgggcaaaggcctggaatgggtggcggtgatttgg tatgatggcagcaacaaacattatgcggatagcgtgaaaggccgctttacca ttacccgcgataacagcaaaaacaccctgaacctgcagatgaacagcctgcg cgcggaagataccgcggtgtattattgcgcgcgcgccgcagtgggaactg gtgcatgaagcgtttgatatttggggccagggcaccatggtgaccgtgagca gcgcgagcaccaaaggcccgagcgtgtttccgctggcgccgtgcagccgcag caccagcgaaagcaccgcggcgctgggctgcctggtgaaagattattttccg gaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcata cctttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggt gaccgtgccgagcagcaactttggcacccagacctatacctgcaacgtggat cataaaccgagcaacaccaaagtggataaaaccgtg +/- TGCCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCCCCGTGGCCGGC
Тезепелумаб	Легкая/ SEQ ID NO: 391	agctatgtgctgacccagccgccgagcgtgagcgtggcgccgggccagaccg cgcgcattacctgcggcggcaacaacctgggcagcaaaagcgtgcattggta tcagcagaaaccgggccaggcgccggtgctggtggtgtatgatgatagcgat cgcccgagctggattccggaacgctttagcggcagcaacagcggcaacaccg cgaccctgaccattagccgcggcgaagcgggcgatgaagcggattattattg ccaggtgtgggatagcagcagcgatcatgtggtgtttggcggcggcaccaaa ctgaccgtgctgggccagccgaaagcggcgccgagcgtgaccctgtttccgc cgagcagcgaagaactgcaggcgaacaaagcgaccctggtgtgcctgattag cgatttttatccgggcgcggtgaccgtggcgtggaaagcggatagcagcccg gtgaaagcgggcgtggaaaccaccaccccgagcaaacagagcaacaacaaat atgcggcgagcagctatctgagcctgaccccggaacagtggaaaagccatcg cagctatagctgccaggtgacccatgaaggcagcaccgtggaaaaaaccgtg gcgccgaccgaatgcagc

ТАБЛИЦА 7. Таблица аминокислотных последовательностей Fc-доменов

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Соланезумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 290	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
GSK933776	Fc-домен/ SEQ ID NO: 291	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
UCB-0107	Fc-домен/ SEQ ID NO: 292	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSLGK
Празинезумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 293	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
MEDI-1341/TAK 341	Fc-домен/ SEQ ID NO: 294	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPASI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
NI-204.10D12	Fc-домен/ SEQ ID NO: 295	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Эптинезумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 296	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYASTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Фреманезумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 297	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPSSI EKTISKTKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPMLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Галканезумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 298	FPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKGLPSS IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSLGK

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
Севацизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 299	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Аскринвакумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 300	PSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI EKTISKTKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPMLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Тезидолумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 301	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Каротуксимаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 302	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Адалимумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 303	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Инфликсимаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 304	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Голимумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 305	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Элезанумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 306	FPPKPKDQLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVLHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
PRX-004	Fc-домен/ SEQ ID NO: 307	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Памревлумаб	Fc-домен/ SEQ ID	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
	NO: 308	SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Сатрализумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 309	PSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI EKTISKTKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPMLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HAHYTQKSLS LSP
Сарилумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 310	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Инебилизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 311	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Этролизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 312	FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG
Ромосозумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 313	PSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI EKTISKTKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPMLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Ланаделумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 314	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPG
Силтуксимаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 355	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Клазакизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 356	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYASTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Сирукумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 357	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Олокизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 358	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG

mAb	Цепь/ SEQ ID NO.	Последовательность
		SFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSLGK
Тоцилизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 359	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPG
Леканемаб	Fc-домен/ SEQ ID No: 392	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Равулизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 393	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSVLHEAL HSHYTQKSLS LSLGK
Бенрализумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 394	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Реслизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 395	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSLGK
Тралокинумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 396	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSLGK
Немолизумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 397	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI EKTISKTKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPMLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSP
Омализумаб	Fc-домен/ SEQ ID NO: 398	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK

5.4 Доставка конструкций генной терапии

5.4.1 Конструкции для доставки в ЦНС

Разделы 5.3.1, 5.3.2, 5.3.3, 5.3.4, 5.3.5, 5.3.6 и 5.3.7 описывают рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с Aβ, сортилином, тау-белком, SEMA4D, альфа-синуклеином, SOD1 и CGRPR, соответственно. Такой рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, должен обладать тропизмом к клетам ЦНС человека, таким как глиальные и нейрональные клетки. Такие векторы могут включать нереплицирующиеся рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы («rAAV»), особенно те, которые несут капсид AAV9, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39 или AAVcy5. Однако можно использовать другие вирусные векторы, включая, но без ограничения, лентивирусные векторы, вирусные векторы коровьей оспы или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК».

В конкретных вариантах осуществления обеспечены конструкции для введения генной терапии человеку, содержащие AAV-вектор, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO : 144); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека, который экспрессирует и доставляет терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как описано в настоящем документе, в частности, экспрессируется из клеток ЦНС. В некоторых вариантах осуществления кодированный капсид AAV9 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 144 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 21, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

В других конкретных вариантах осуществления обеспечены конструкции для введения генной терапии субъекту-человеку, содержащие AAV-вектор, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен

аминокислотной последовательности капсида AAVrh10 (SEQ ID NO : 145); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансген в клетках человека, которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как раскрыто в настоящем документе, в частности, из клеток ЦНС. В определенных вариантах осуществления закодированный капсид AAVrh10 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 145 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остаткки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 21, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, включая трансген HuPTM Fab, должны контролироваться соответствующими элементами контроля экспрессии для экспрессии HuPTM mAb или HuPTM Fab в клетках ЦНС человека, например, промотором CB7 (промотор β-актина курицы и энхансер CMV), промотором RSV, промотором GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок), промотором MBP (основной белок миелина), промотором MMT, промотором EF-lα, промотором U86, промотором RPE65 или промотором опсина, индуцируемым промотором, например, индуцируемым гипоксией промотором или индуцируемым лекарственным средством промотором, таким как промоторы, индуцируемые рапамицином и родственными агентами, и другими элементами контроля экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого вектором (например, интроны, такие как интрон β-актина курица, интрон мелкого вируса мышей (MVM), интрон фактора IX человека (например, усеченный интрон 1 FIX), интрон донора сплайсинга β-глобина/акцептора сплайсинга тяжелой цепи иммуноглобулина, интрон донора сплайсинга аденовируса/акцептора сплайсинга иммуноглобулина, интрон донора позднего сплайсинга SV40/акцептора сплайсинга (19S/16S) и интрон донора сплайсинга гибридного аденовируса/акцептора сплайсинга

IgG и сигналы полиА, такие как сигнал полиА кроличьего β-глобина, сигнал полиА гормона роста человека (hGH), поздний сигнал полиА SV40, синтетический сигнал полиА (SPA) и сигнал полиА бычьего гормона роста (bGH). См., например, Powell and Rivera-Soto, 2015, Discov. Мед., 19(102):49-57.

Конструкции генной терапии сконструированы таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны экспрессироваться примерно в равных количествах, другими словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются примерно при соотношении 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Лидерная последовательность для каждой из тяжелых и легких цепей представляет собой, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146) или одну из лидерных последовательностей, представленных в таблице 2. Раздел 5.1.5, выше, предоставляет конкретные последовательности IRES, 2A и других линкерных последовательностей, которые можно использовать в способах и композициях, представленных в данном документе. В конкретных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер фурин-2A, например, линкер фурин-F2A RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 231. В предпочтительных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер фурин-2A, например, линкер фурин-T2A RKRR(GSG)EGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO: 429). В конкретных вариантах осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность – Fab-часть тяжелой цепи - линкер фурин-2A - сигнальная последовательность – Fab-часть легкой цепи. См., например, фиг. 2A-2C для последовательностей для экспрессии Fab соланезумаба, леканемаба и GSK933776, соответственно; фиг. 3 для последовательности для экспрессии Fab AL-001; фиг. 4A-4C для последовательности для экспрессии Fab ABBV-8E12, UCB-0107 и NI-105, соответственно; фиг. 5 для последовательности для экспрессии Fab VX15/2503; фиг. 6A-C для последовательности для экспрессии Fab празинезумаба, NI-202 и MED-1341, соответственно; фиг. 7A-B для последовательности для экспрессии Fab NI-204; и фиг. 8A-C для последовательности для экспрессии Fab эптинезумаба, фреманезумаба и галканезумаба, соответственно. В альтернативном варианте осуществления конструкция также содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую Fc-

домен терапевтического антитела (см. таблицу 7 или фиг. 23) для экспрессии полноразмерного mAb.

В конкретном варианте осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор куриного β-актина, b) интрон куриного β-актина и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи Aβ-связывающего, сортилин-связывающего, тау-связывающего, SEMA4D-связывающего, альфа-синуклеин-связывающего, SOD1-связывающего или CGRPR-связывающего Fab, разделенного саморасщепляющимся линкером фурин (F)/2A, обеспечивающим экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-Aβ, анти-сортилин, анти-тау-белок, анти-SEMA4D, анти-альфа-синуклеин, анти-SOD1 или анти-CGRPR mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека.

5.4.2 Конструкции для доставки в клетки печени или мышц

Разделы 5.3.8, 5.3.9, 5.3.10, 5.3.11, 5.3.12, 5.3.13, 5.3.14, 5.3.15, 5.3.16, 5.3.17, 5.3.18, 5.3.19, 5.3.20 и 5.3.21 описывают рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с VEGF, EpoR, ALK-1, C5, ENG, CC1Q, TNFα, RGMa, TTR, CTGF, IL6R, IL6, CD19, ITGF7, SOST, pKal, IL-6, IL-6R, IL/ILR, IgE или TSLP. Такой рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, может обладать тропизмом к клеткам печени или мышц человека. Такие векторы могут включать нереплицирующиеся рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы («rAAV»), например, те, которые несут капсид AAV8 или AAV9. Однако можно быть использованы другие вирусные векторы, включая, но без ограничения,

лентивирусные векторы, вирусные векторы коровьей оспы или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК».

В конкретных вариантах осуществления представлены конструкции для введения человеку с помощью генной терапии, содержащие AAV-вектор, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека (например, клетках мышц или печени), которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как раскрыто в данном документе. В некоторых вариантах осуществления кодированный капсид AAV8 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 143 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 21, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в различных положениях внутри капсидной последовательности.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены конструкции для введения субъекту-человеку посредством генной терапии, содержащие AAV-вектор, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека (например, клетках мышц или печени), которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как раскрыто в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления кодированный капсид AAV9 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 144 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,

17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 21, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

В других вариантах осуществления HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, включая трансген HuPTM Fab, должны контролироваться соответствующими элементами контроля экспрессии для экспрессии HuPTM Fab в клетках печени или мышц человека, например, промотором CB7 (промотор β-актина курицы и энхансер CMV, SEQ ID NO: 411), промотором альфа EF-1 (SEQ ID NO: 415), mUla (SEQ ID NO: 414) или специфическими для печени промоторами, такими как TBG (тироксинсвязывающий глобулин) (SEQ ID NO: 423), промотор APOA2, промотор SERPINA1 (hAAT), промотор ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412) или промотор MIR122, или мышечно-специфическими промоторами, такими как промотор десмина человека, промотор CK8 (SEQ ID NO: 413) или промотор Pitx3 человека, или индуцируемыми промоторами, такими как индуцируемые гипоксией промоторы или индуцируемый рапамицином промотор, и могут включать другие элементы контроля экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого вектором (например, интроны, такие как интрон куриного β-актина, интрон мелкого вируса мышей (MVM), интрон человеческого фактора IX (например, усеченный интрон 1 FIX), интрон донора сплайсинга β-глобина/акцептора сплайсинга тяжелой цепи иммуноглобулина, интрон донора сплайсинга аденовируса/акцептора сплайсинга иммуноглобулина, интрон донора позднего сплайсинга SV40/акцептора сплайсинга (19S/16S) и интрон донора сплайсинга гибридного аденовируса/акцептора сплайсинга IgG и сигналы полиА, такие как сигнал полиА кроличьего β-глобина, сигнал полиА гормона роста человека (hGH), сигнал позднего полиА SV40, синтетический сигнал полиА (SPA) и сигнал полиА бычего гормона роста (bGH). См., например, Powell and Rivera-Soto, 2015, Discov. Med., 19(102):49-57.

В некоторых вариантах осуществления экспрессия трансгена контролируется тканеспецифическими промоторами или регуляторными элементами, которые способствуют тканеспецифичности, например, для специфической для печени экспрессии, LSPX1 (SEQ ID NO: 315), LSPX2 (SEQ ID NO: 316), LTP1 (SEQ ID NO: 317), LTP2 (SEQ ID NO: 318) или LTP3 (SEQ ID NO: 319), для экспрессии в печени и

мышцах, LMTP6 (SEQ ID NO: 320), LMTP13 (SEQ ID NO: 321), LMTP14 (SEQ ID NO: 322), LMTP15 (SEQ ID NO: 323), LMTP18 (SEQ ID NO: 324), LMTP19 (SEQ ID NO: 325) или LMTP20 (SEQ ID NO: 326), или для экспрессии в печени и костях LBTP1 (SEQ ID NO: 327) или LBTP2 (SEQ ID NO: 328), последовательности которых представлены в таблице 1.

Конструкции генной терапии разработаны таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны экспрессироваться примерно в равных количествах, другими словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются примерно при соотношении 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Лидерная последовательность для каждой из тяжелых и легких цепей представляет собой, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). В разделе 5.1.5, выше, представлены конкретные последовательности IRES, 2A и других линкерных последовательностей, которые можно использовать с представленными в настоящем документе способами и композициями. В конкретных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер фурин-2A, например, линкер фурин-F2A RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 231) или линкер фурин-T2A RKRR(IDGG)EGRGSLLTCGDVE). В конкретных вариантах осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность – Fab-часть тяжелой цепи - линкер фурин-2A - сигнальная последовательность – Fab-часть легкой цепи. См., например, фиг. 2B для последовательностей экспрессии Fab GSK933776; фиг. 9A-9C для последовательностей для экспрессии Fab севацизумаба и LKA-651, соответственно; фиг. 10A-10D для последовательности для экспрессии Fab аскринвакумаба, тезидолумаба, равулизумаба и каротуксимаба, соответственно; фиг. 11 для последовательностей для экспрессии Fab ANX-007; фиг. 12A-12C для последовательности для экспрессии Fab адалимумаба, инфликсимаба и голимумаба; фиг. 13 для последовательности для экспрессии Fab елезанумаба; фиг. 14A и 14B для последовательностей для экспрессии Fab NI-301 и PRX-004, соответственно; фиг. 15 для последовательности для экспрессии Fab памревлумаба; фиг. 16A-16I для последовательностей для экспрессии Fab сатрализумаба, сарилумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилимзумаба, тоцилизумаба и

инебилизумаба, соответственно; фиг. 17 для последовательности для экспрессии Fab этролизумаба; фиг. 18 для последовательности для экспрессии Fab ромосозумаба; фиг. 19 для последовательности для экспрессии Fab ланаделумаба; и фиг. 29A-29F для последовательности для экспрессии Fab бенрализумаба, реслизумаба, тралокинумаба, немолизумаба, омализумаба и тезепелумаба, соответственно. В альтернативном варианте осуществления конструкция также содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую Fc-домен для терапевтического антитела (см. таблицу 7 или фиг. 23) для экспрессии полноразмерного mAb. В конкретных вариантах осуществления трансгенные последовательности экспрессии ланаделумаба представлены в таблице 8.

В конкретном варианте осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) индуцируемый промотор, например, индуцируемый гипоксией промотор или тканеспецифический промотор, например ApoE.hAAT, LSPX1, LMTP6 или CK8, или другие, представленные в таблице 1, b) интрон β-актина курицы и c) сигнал полиA β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи VEGF-связывающего, EpoR-связывающего, ALK-1-связывающего, C5-связывающего, ENG-связывающего, CC1Q-связывающего, TNFα-связывающего, RGMa-связывающего, TTR-связывающего, CTGF-связывающего, IL6R-связывающего, IL6-связывающего, CD19-связывающего, ITGF7-связывающего, SOST-связывающего, pKal-связывающего, IL-6-связывающего или IL6R-связывающего, IL/ILR-связывающего, IgE-связывающего или TSLP-связывающего Fab, разделенных саморасщепляющимся линкером фурин (F)/2A или линкером T2A, обеспечивая экспрессию в равных количествах полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В конкретном варианте осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) индуцируемый промотор, например, индуцируемый гипоксией промотор или тканеспецифический промотор (например, ApoE.hAAT или LSPX1), b) куриный интрон β-актина и в) сигнал полиA β-глобина кролик; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи VEGF-связывающего, EpoR-связывающего, ALK-1-связывающего, C5-связывающего, ENG-

связывающего, CC1Q-связывающего, TNFα-связывающего, RGMa-связывающего, TTR-связывающего, CTGF-связывающего, IL6R-связывающего, IL6-связывающего, CD19-связывающего, ITGF7-связывающего, SOST-связывающего, pKal-связывающего, IL-6- или IL6R, IL/ILR-связывающего, IgE-связывающего или TSLP-связывающего Fab, разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/2A или линкером T2A, обеспечивающие экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету экспрессии, которая фланкирована инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий анти-VEGF, анти-EpoR, анти-ALK-1, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNF-α, анти-RGMa, анти-TTR, анти-CTGF, анти-IL6R, анти-IL6, анти-CD 19, анти-ITGF7, анти-SOST, анти-pKal, IL-6 или IL-6R, анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышц человека.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности AAV9 (SEQ ID NO: 144); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-VEGF, анти-EpoR, анти-ALK-1, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNF-α, анти-RGMa, анти-TTR, анти-CTGF, анти-IL6R, анти-IL6, анти-CD19, анти-ITGF7, анти-SOST, анти-pKal, IL-6 или IL-6R, анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в мышечных клетках человека.

В некоторых вариантах осуществления rAAV содержит трансген, кодирующий анти-калликреин антитело, такое как ланаделумаб, и конструкция содержит следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) регуляторные контрольные элементы, а) промотор/энхансеры, такие как любой из Sp7 (SEQ ID NO: 329), minSP7 (SEQ ID NO:

329), ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412), LSPX1 (SEQ ID NO: 315), LSPX2 (SEQ ID NO: 316), LTP1 (SEQ ID NO: 317), LTP2 (SEQ ID NO: 318), LTP3 (SEQ ID NO: 319), LMTP6 (SEQ ID NO: 320), LMTP13 (SEQ ID NO: 321), LMTP14 (SEQ ID NO: 322), LMTP15 (SEQ ID NO: 323), LMTP18 (SEQ ID NO: 324), LMTP19 (SEQ ID NO: 325), LMTP20 (SEQ ID NO: 326), LBTP1 (SEQ ID NO: 327) или LBTP2 (SEQ ID NO: 328), представленные в таблице 1, b) сигнал полиА и c) необязательно интрон; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи ланаделумаба (L01 (SEQ ID NO: 141), L02 (SEQ ID NO: 286) или L03 (SEQ ID NO: 287), таблица 8), где тяжелая цепь (Fab и Fc-область) и легкая цепь разделены саморасщепляющимся фурином (F)/F2A (SEQ ID NO: 231) или фурином (F)/T2A (SEQ ID NO: 429), или гибким линкером, обеспечивая экспрессии равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. В конкретных вариантах осуществления трансген, экспрессирующий ланаделумаб, имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 435-443.

5.4.3 Конструкции для доставки к типам клеток сетчатки

В разделах 5.3.8, 5.3.9, 5.3.10, 5.3.11, 5.3.15, 5.3.19 и 5.3.20 описаны рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAh или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с VEGF, EpoR, пептидами Aβ, калликреином, ALK-1, C5, ENG, CC1Q, TNFα, IL6R, IL6 и CD19. Такие рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, могут характеризоваться тропизмом к одному или более типов клеток сетчатки человека. Такие векторы могут включать нереплицирующиеся рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы («rAAV»), например, те, которые несут капсид AAV8. В качестве альтернативы можно использовать AAV-вектор, несущий капсид AAV2.7m8. Однако можно использовать другие вирусные векторы, включая, но без ограничения, лентивирусные векторы, вирусные векторы коровьей оспы или невирусные векторы экспрессии, называемые конструкциями «голая ДНК».

В конкретных вариантах осуществления обеспечены конструкции для введения субъекту-человеку с помощью генной терапии, содержащие AAV-вектор, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета

содержит трансген, кодирующий тяжелые и легкие цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансген в клетках человека (например, клетках сетчатки или клетках печени), которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как раскрыто в данном документе. В некоторых вариантах осуществления кодированный капсид AAV8 характеризуется последовательность SEQ ID NO: 143 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 21, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены конструкции для введения человеку с помощью генной терапии, содержащие AAV-вектор, который содержит вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142); и вирусный или искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий тяжелые и легкие цепи терапевтического антитела, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках человека (например, клетках сетчатки или клетках печени), которые экспрессируют и доставляют терапевтическое антитело терапевтически подходящим способом, как раскрыто в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления кодированный капсид AAV2.7m8 характеризуется последовательностью SEQ ID NO: 142 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами, в частности, заменами на аминокислотные остатки, найденные в соответствующем положении в других капсидах AAV, например, в строке SUBS на фиг. 21, которая обеспечивает сравнение аминокислотных последовательностей капсидных последовательностей различных AAV, выделяя аминокислоты, подходящие для замены в разных положениях внутри капсидной последовательности.

В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, включая трансген HuPTM Fab, должны контролироваться соответствующими элементами контроля экспрессии для экспрессии HuPTM Fab или HuPTM Mab в клетках сетчатки или печени человека, например, CB7 промотор (промотор β-актина курицы и энхансер CMV, SEQ ID NO: 411) или тканеспецифическими промоторами, такими как RPE-специфические промоторы, например, промотор RPE65, или колбочко-специфические промоторы, например, промотор опсина, или специфические для печени промоторы, такие как промотор TBG (тироксин-связывающий глобулин) (SEQ ID NO: 423), промотор APOA2, промотор SERPINA1 (hAAT), промотор ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412) или промотор MIR122, индуцируемые промоторы, например, индуцированные гипоксией промоторы и индуцируемые лекарственными средствами промоторы, такие как промоторы, индуцируемые рапамицином и родственными агентами; и могут включать другие контрольные элементы экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемого вектором (например, интроны, такие как интрон куриного β-актина, интрон мелкого вируса мышей (MVM), интрон фактора IX человека (например, усеченный интрон 1 FIX), интрон донора сплайсинга β-глобина/акцептора сплайсинга тяжелой цепи иммуноглобулина, интрон донора сплайсинга аденовируса/акцептора сплайсинга иммуноглобулин, интрон донора позднего сплайсинга SV40/акцептора сплайсинга (19S/16S) и интрон донора сплайсинга гибридного аденовируса/акцептора сплайсинга IgG и сигналы полиА, такие как сигнал полиА β-глобина кролика, сигнал полиА гормона роста человека (hGH), поздний сигнал полиА SV40, синтетический сигнал полиА (SPA) и сигнал полиА бычьего гормона роста (bGH). См., например, Powell and Rivera-Soto, 2015, Discov. Med., 19(102):49-57. В некоторых вариантах осуществления экспрессия трансгена контролируется тканеспецифическими промоторами или регуляторными элементами, которые способствуют тканеспецифичности, например, для специфической для печени экспрессии, LSPX1 (SEQ ID NO: 315), LSPX2 (SEQ ID NO: 316), LTP1 (SEQ ID NO: 317), LTP2 (SEQ ID NO: 318) или LTP3 (SEQ ID NO: 319), для экспрессии в печени и мышцах, LMTP6 (SEQ ID NO: 320), LMTP13 (SEQ ID NO: 321), LMTP14 (SEQ ID NO: 322), LMTP15 (SEQ ID NO: 323), LMTP18 (SEQ ID NO: 324), LMTP19 (SEQ ID NO: 325) или LMTP20 (SEQ ID NO: 326), или для экспрессия в печени и костной ткани, LBTP1 (SEQ ID NO: 327) или LBTP2 (SEQ ID NO: 328), последовательности которых представлены в таблице 1.

Конструкции генной терапии для антител или Fab сконструированы таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. Более конкретно, тяжелые и легкие цепи должны экспрессироваться примерно в равных количествах, другими словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются примерно при соотношении 1:1 тяжелых цепей к легким цепям. Кодирующие последовательности для тяжелых и легких цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелые и легкие цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. Лидерная последовательность для каждой из тяжелых и легких цепей представляет собой, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). В разделе 5.1.5, выше, представлены конкретные IRES, 2A и другие линкерные последовательности, которые можно использовать со способами и композициями, представленными в настоящем документе. В конкретных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер фурин-2A, например, линкер фурин-F2A RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 231) или линкер фурин-T2A RKRR(IDGG)EGRGSLLTCGDVEENQP 42). В конкретных вариантах осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность - Fab-часть тяжелой цепи - линкер фурин-(F/T)2A - сигнальная последовательность - Fab-часть легкой цепи. См. фиг. 2A-C для последовательностей для экспрессии Fab соланезумаба, GSK933776 и леканемаба, соответственно; фиг. 9A-9C для последовательностей для экспрессии Fab севацизумаба и LKA-651, соответственно; фиг. 10A-10D для последовательностей для экспрессии Fab аскринвакумаба, тезидолумаба, равулизумаба и каротуксимаба, соответственно; фиг. 11 для последовательностей для экспрессии Fab ANX-007; фиг. 12A-12C для последовательностей для экспрессии Fab адалимумаба, инфликсимаба и голимумаба, соответственно; фиг. 16A-16I для последовательностей для экспрессии Fab сатрализумаба, сарилумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилимзумаба и тоцилизумаба, инебилизумаба, соответственно; и фиг. 19 для экспрессии Fab ланаделумаба (и см. также таблицу 8 для нуклеотидных последовательностей, кодирующих трансгены ланаделумаба и ланаделумаба). В альтернативном варианте осуществления конструкция также содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую Fc-домен терапевтического антитела (см. таблицу 7 или фиг. 23) для экспрессии полноразмерного mAb (и таблицу 8 для ланаделумаба).

В конкретном варианте осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор куриного β-актина, b) интрон куриного β-актина и c) сигнал полиA β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи VEGF-связывающего, EpoR-связывающего, анти-Aβ-связывающего, ALK-1-связывающего, C5-связывающего, ENG-связывающего, CC1Q-связывающего, TNFα-связывающего, калликреин-связывающего, IL6R-связывающего, IL6-связывающего и CD19-связывающего Fab, разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/2A или линкером T2A, обеспечивая экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В другом варианте осуществления описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор куриного β-актина, b) интрон куриного β-актина и c) сигнал полиA β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелые и легкие цепи VEGF-связывающего, EpoR-связывающего, Aβ-связывающего, ALK-1-связывающего, C5-связывающего, ENG-связывающего, CC1Q-связывающего, TNFα-связывающего, калликреин-связывающего, IL6R-связывающего, IL6-связывающего и CD19-связывающего Fab, разделенные гибким пептидным линкером, обеспечивая надлежащее сворачивание и растворимость.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-VEGF, анти-EpoR, анти-Aβ, анти-ALK-1, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNFα, анти-калликреин, анти-IL6R, анти-IL6 и анти-CD19 mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в одном или более типах клеток сетчатки (таких как клетки фоторецепторов человека (клетки колбочек, палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки;

амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (клетки среднего размера, зонтичные клетки, бистратифицированные клетки, гигантские ганглиозные клетки сетчатки), светочувствительные ганглиозные клетки и глия мюллера) и пигментные эпителиальные клетки сетчатки).

5.5 Введение дозы

5.5.1 Администрация для доставки в ЦНС

В разделах 5.3.1, 5.3.2, 5.3.3, 5.3.4, 5.3.5, 5.3.6 и 5.3.7 описаны рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с Aβ, сортилином, тау-белком, SEMA4D, альфа-синуклеином, SOD1 и CGRPR, соответственно. Терапевтически эффективные дозы любого такого рекомбинантного вектора следует вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор поступал в ЦНС, например, путем введения рекомбинантного вектора в спинномозговую жидкость (CSF). В конкретных вариантах осуществления вектор вводят интратекально, конкретно интрацистернально (например, в цистерну магна) или, альтернативно, посредством люмбальной доставки. Альтернативно, рекомбинантный вектор можно вводить внутривенно. В частности, было показано, что рекомбинантные векторы AAV9 проникают через гематоэнцефалический барьер и, как таковые, могут быть применимы для доставки анти-Aβ, антисортилина, анти-тау, анти-SEMA4D, анти-альфа-синуклеина, анти-SOD1, или анти-CGRPR трансгенного продукта антитела в ЦНС. В частности, scAAV9 может быть особенно применим для внутривенного введения. Интратекальное, включая интрацистернальное или люмбальное введение, или внутривенное введение должно приводить к экспрессии растворимого трансгенного продукта в клетках ЦНС. Экспрессия трансгенного продукта (например, кодируемого анти-Aβ, анти-антисортилин, анти-тау, анти-SEMA4D, анти-альфа-синуклеин, анти-SOD1 или анти-CGRPR антитела) приводит к доставке и поддержанию трансгенного продукта в ЦНС. Поскольку трансгенный продукт продуцируется непрерывно, поддержание более низких концентраций может быть эффективным. Концентрация трансгенного продукта может быть измерена в образцах спинномозговой жидкости пациентов.

Фармацевтические композиции, подходящие для интратекального, интрацистернального, люмбального или внутривенного введения, включают суспензию рекомбинантного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-Aβ, анти-сортилин, анти-тау, анти-SEMA4D, анти-альфа-синуклеин, анти-SOD1, или анти-

CGRPR антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в буфере для составления, содержащем физиологически совместимый водный буфер. Буфер для составления может содержать один или более из полисахарида, поверхностно-активного вещества, полимера или масла.

5.5.2 Введение для доставки в печень или мышечную ткань

В разделах 5.3.8, 5.3.9, 5.3.10, 5.3.11, 5.3.12, 5.3.13, 5.3.14, 5.3.15, 5.3.16, 5.3.17, 5.3.18, 5.3.19, 5.3.20 и 5.3.21 описаны рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий HuPTM mAb или HuPTM Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент HuPTM mAb), который связывается с VEGF, EpoR, Aβ, ALK-1, C5, ENG, CC1Q, TNFα, RGMa, TTR, CTGF, IL6R, IL6, CD19, 1TGF7, SOST, pKal, IL/ILR, IgE или TSLP. Терапевтически эффективные дозы любого такого рекомбинантного вектора следует вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в печень или мышцу (например, в скелетную мышцу), например, путем введения рекомбинантного вектора в кровоток. Альтернативно, вектор можно вводить непосредственно в печень через печеночный кровоток, например, через печеночные вены или через печеночную артерию. В конкретных вариантах осуществления вектор вводят подкожно, внутримышечно или внутривенно. Внутримышечное, подкожное, внутривенное или печеночное введение должно приводить к экспрессии растворимого трансгенного продукта в клетках печени или мышц. Альтернативно, вектор можно вводить непосредственно в печень через печеночный кровоток, например, через надпеченочные вены или через печеночную артерию. Экспрессия трансгенного продукта (например, кодируемого анти-VEGF, анти-EpoR, анти-Aβ, анти-ALK1, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNFα, анти-RGMa, анти-TTR , анти-CTGF, анти-IL6R, анти-CD19, анти-ITGF7, анти-SOST, анти-pKal, анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP антитела) приводит к доставке и поддержанию трансгенного продукта в печени или мышцах.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-TNFα антитела в плазме при C_{min} по меньшей мере 0,5 мкг/мл или по меньшей мере 1 мкг/мл (например, C_{min} 1-10 мкг/мл, 3-30 мкг/мл или 5-15 мкг/мл, или 5-30 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела адалимумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 5 мкг/мл (например, C_{min} 5-10 мкг/мл или 10-20 мкг/мл), предпочтительно C_{min} от около 8 мкг/мл до 9 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены, дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела инфликсимаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 2 мкг/мл (например, C_{min} 2-10 мкг/мл или 10-20 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} от около 5 мкг/мл до 6 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-CD19 в плазме при C_{min} по меньшей мере 1 мкг/мл (например, C_{min} 1-10 мкг/мл или 10-100 мкг/мл, или 100-300 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-SOST в плазме при C_{min} по меньшей мере 1 мкг/мл (например, C_{min} 1-10 мкг/мл или 10-100 мкг/мл, или 100-200 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела сарилумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 5 мкг/мл (например, C_{min} 5-20 мкг/мл или 20-50 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} от около 15 мкг/мл до 20 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела тоцилизумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 1 мкг/мл (например, C_{min} 1-10 мкг/мл или 10-20 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела силтуксимаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 20 мкг/мл (например, C_{min} от около 20 мкг/мл до 100 мкг/мл или 100-200 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} от около 80 мкг/мл до 90 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-CTGF антитела в плазме при C_{min} 100 мкг/мл (например, C_{min} 100-200 мкг/мл или 200-300 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-ENG антитела в плазме при C_{min} по меньшей мере 10 мкг/мл, например, C_{min} 10-100 мкг/мл или 100-300 мкг/мл или 300-600 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-C5 антитела в плазме при Cmin по меньшей мере 10 мкг/мл (например, C_{min} 10-100 мкг/мл или 100-200 мкг/мл, или 200-300 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела равлизумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 200 мкг/мл (например, C_{min} 200-300 мкг/мл или 300-400 мкг/мл, или 400-600 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} около 350-450 мкг/мл у пациентов, ранее не получавших ингибитор комплемента, и при C_{min} около 450-550 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-IL/ILR антитела в плазме при C_{min} по меньшей мере 0,1 мкг/мл (например, C_{min} 0,1-10 мкг/мл или 10-20 мкг/мл или 20-100 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-IgE антитела в плазме при C_{min} по меньшей мере 100 мкг/мл (например, C_{min} 100-200 мкг/мл или 200-300 мкг/мл или 300-400 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию трансгенного продукта анти-TSLP антитела в плазме при C_{min} по меньшей мере 70 мкг/мл (например, C_{min} 70-150 мкг/мл или 100-200 мкг/мл, или 200-350 мкг/мл).

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела ланаделумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 10 мкг/мл (например, C_{min} 10-50 мкг/мл или 50-100 мкг/мл, или 100-200 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} около 20-30 мкг/мл.

Однако во всех случаях, поскольку трансгенный продукт продуцируется непрерывно, может быть эффективным поддержание более низких концентраций. Тем не менее, поскольку трансгенный продукт продуцируется непрерывно, поддержание более низких концентраций может быть эффективным. Концентрация трансгенного продукта может быть измерена в образцах сыворотки крови пациента.

Фармацевтические композиции, подходящие для внутривенного, внутримышечного, подкожного или печеночного введения, включают суспензию

рекомбинантного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-VEGF, анти-EpoR, анти-Aβ, анти-ALK-1, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNFα, анти-RGMa, анти-TTR, анти-CTGF, анти -IL6R, анти-IL6, анти-CD19, анти-ITGF7, анти-SOST, анти-pKal, анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, в буфере для составления, содержащем физиологически совместимый водный буфер. Буфер для составления может содержать один или несколько из полисахарида, поверхностно-активного вещества, полимера или масла.

5.5.3 Введение для доставки в клетки типа сетчатки

Терапевтически эффективные дозы рекомбинантного вектора следует вводить любым способом, так чтобы рекомбинантный вектор попадал в сетчатку, например, путем введения рекомбинантного вектора непосредственно в глаз. В конкретных вариантах осуществления вектор вводят субретинально (хирургическая процедура, выполняемая обученными хирургами по сетчатке глаза, которая включает частичную витрэктомию с субъектом под местной анестезией и инъекцию генной терапии в сетчатку; см., например, публикацию Campochiaro et al., 2016, Hum Gen Ther Sep 26, epub:doi: 10.1089/hum.2016.117, которая полностью включен в настоящий документ посредством ссылки), или интравитреально, или супрахориоидально, например, путем микроинъекции или микроканюляции. (См., например, публикацию Patel et al., 2012, Invest Ophth & Vis Sci 53:4433-4441; Patel et al., 2011, Pharm Res 28:166-176; Olsen, 2006, Am J Ophth 142:777-787, каждая из которых полностью включена посредством ссылки). Субретинальное, интравитреальное или супрахориоидальное введение должно приводить к экспрессии растворимого трансгенного продукта в одном или более из следующих типов клеток сетчатки: человеческие фоторецепторные клетки (клетки колбочек, клетки палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (карликовая клетка, зонтичная клетка, бистратифицированная клетка, гигантская ганглиозная клетка сетчатки, светочувствительная ганглиозная клетка и глия Мюллера); и клетки пигментного эпителия сетчатки.

Экспрессия трансгенного продукта (например, кодируемого анти-VEGF, анти-EpoR, анти-Aβ, анти-pKal, анти-ALK-1, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNFα, анти-IL6R, анти-IL6 и анти-CD19 антитела) приводит к доставке и поддержанию трансгенного продукта в сетчатке. Фармацевтические композиции, подходящие для введения, включают суспензию рекомбинантного вектора, содержащего трансген, кодирующий анти-VEGF, анти-EpoR, анти-Aβ, анти-pKal, анти-ALK-1, анти-C5, анти-

ENG, анти-CC1Q, анти-TNFα, анти-IL6R, анти-IL6 и анти-CD19 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент в буфере для составления, содержащем физиологически совместимый водный буфер. Буфер для составления может содержать один или несколько из полисахарида, поверхностно-активного вещества, полимера или масла.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела адалимумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 5 мкг/мл (например, C_{min} 5-10 мкг/мл или 10-20 мкг/мл), предпочтительно C_{min} около 8-9 мкг/мл. В конкретных вариантах осуществления дозы и пути введения вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело адалимумаб или его антигенсвязывающий фрагмент, должны приводить к экспрессии антитела адалимумаба или его антигенсвязывающего фрагмента, которая обеспечивает и поддерживает интравитреальную концентрацию антитела адалимумаба или его антигенсвязывающего фрагмента на уровне, эквивалентном интравитреальной концентрации, достигаемой ежемесячными интравитреальными инъекциями Humira в дозе 1,5 мг.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию антитела инфликсимаба или его антигенсвязывающего фрагмента в плазме при C_{min} по меньшей мере 2 мкг/мл (например, C_{min} 2-10 мкг/мл или 10-20 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} около 5-6 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела сарилумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 5 мкг/мл (например, C_{min} 5-20 мкг/мл или 20-50 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} около 15-20 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления дозы и пути введения вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело сатрализумаб или его антигенсвязывающий фрагмент, должны приводить к экспрессии антитела сатрализумаба или его антигенсвязывающего фрагмента, которая обеспечивает и поддерживает интравитреальную концентрацию антитела сатрализумаба или его антигенсвязывающего фрагмента на уровне, эквивалентном интравитреальной концентрации, достигаемой ежемесячными подкожными инъекциями SA237 (Roche) в дозе 120 мг.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела тоцилизумаба или его

антигенсвязывающего фрагмента при Cmin по меньшей мере 1 мкг/мл (например, C_{min} 1-10 мкг/мл или 10-20 мкг/мл). В конкретных вариантах осуществления дозы и пути введения вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело тоцилизумаб или его антигенсвязывающий фрагмент, должны приводить к экспрессии антитела тоцилизумаба или его антигенсвязывающего фрагмента, которая обеспечивает и поддерживает системную концентрацию антитела адалимумаба или его антигенсвязывающего фрагмента на уровне, эквивалентном системной концентрации, достигаемой ежемесячными внутривенными инъекциями RoActemra в дозе 4 мг/кг или 8 мг/кг.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела силтуксимаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 20 мкг/мл (например, C_{min} 20-100 мкг/мл или 100-200 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} около 80-90 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела равлизумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 200 мкг/мл (например, C_{min} 200-300 мкг/мл или 300-400 мкг/мл, или 400-600 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} около 350-450 мкг/мл у пациентов, ранее не получавших ингибитор комплемента, и при C_{min} около 450-550 мкг/мл.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела ланаделумаба или его антигенсвязывающего фрагмента при C_{min} по меньшей мере 10 мкг/мл (например, 10-50 мкг/мл, или 50-100 мкг/мл, или 100-200 мкг/мл), предпочтительно при C_{min} около 20-30 мкг/мл.

5.6 Конструкции и способы экспрессии HuPTM mAb

В примерах 36 и 37 продемонстрировано, что полноразмерные тяжелые и легкие цепи ланаделумаба экспрессировались из трансгена вектора AAV в человеческих клетках HEK293 и секретировались в клеточный супернатант (фиг. 24B-24D). У мышей, которым вводили рекомбинантный AAV8 и рекомбинантный AAV9 векторы, несущие трансген, кодирующий полноразмерные тяжелые и легкие цепи ланаделумаба, в сыворотке присутствовал ланаделумаб, что было определено с помощью ELISA через семь недель после введения (фиг. 25). Соответственно, в настоящем документе обеспечены конструкции AAV, векторы, способы изготовления и способы лечения, включающие трансгены, которые кодируют полноразмерную тяжелую цепь (включая

вариабельный домен тяжелой цепи, константный домен 1 тяжелой цепи (C_H1), шарнир и Fc-домен) и полноразмерную легкую цепь (вариабельный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи), которые при экспрессии связываются с образованием антигенсвязывающих антител с Fc-доменами. Рекомбинантные конструкции AAV экспрессируют интактное (т.е. полноразмерное) или по существу интактное HuPTM mAb в клетке, клеточной культуре или у субъекта. («По существу интактное» относится к mAb, имеющему последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична полноразмерной последовательности mAb.) Нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи, могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека и имеют пониженную частоту возникновения димеров CpG в последовательности для содействия экспрессии в клетках человека. Трансгены могут кодировать любое полноразмерное антитело. В предпочтительных вариантах осуществления трансгены кодируют полноразмерную форму любого из терапевтических антител, раскрытых в настоящем документе, например Fab-фрагменты, представленные на фиг. 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F в настоящем документе и включая, в некоторых вариантах осуществления, связанный Fc-домен, представленный в таблице 7. В других вариантах осуществления трансгены кодируют полноразмерные формы Fab-фрагментов терапевтических антител, изображенных на одной из фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A, 4B, 5A-5C, 6, 7A, 7B, 8A-8H, 9A или 9B заявки PCT № PCT/US2018/056346, поданной 17 октября 2018 г., включенной в настоящий документ посредством ссылки (фигуры включены в качестве Приложения к настоящему документу) с Fc-доменом.

Полноразмерные mAb, кодируемые описанным в настоящем документе трансгеном, предпочтительно содержат Fc-домен полноразмерного терапевтического антитела или представляют собой Fc-домен того же типа иммуноглобулина, что и терапевтическое антитело, которое должно быть экспрессировано. В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область IgG, но в других вариантах осуществления Fc-область может представлять собой IgA, IgD, IgE или IgM. Домен Fc предпочтительно имеет тот же изотип, что и терапевтическое антитело, которое должно быть экспрессировано, например, если терапевтическое антитело относится к изотипу IgG1, то антитело, экспрессируемое трансгеном, содержит Fc-домен IgG1. Антитело, экспрессируемое трансгеном, может содержать Fc-домен IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

Область Fc интактного mAb имеет одну или несколько эффекторных функций, которые варьируются в зависимости от изотипа антитела. Эффекторные функции могут быть такими же, как у антитела дикого типа или терапевтического антитела, или могут быть модифицированы на их основе для добавления, усиления, модификации или ингибирования одной или более эффекторных функций с использованием модификаций Fc, описанных в разделе 5.1.9 ниже. В некоторых вариантах осуществления трансген HuPTM mAb кодирует mAb, содержащее полипептид Fc, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в полипептидах Fc-домена терапевтических антител, описанных в настоящем документе, как представлено в таблице 7, или иллюстративный Fc-домен IgG1, IgG2 или IgG4 изотипа, как представлено на фиг. 23. В конкретных вариантах осуществления HuPTM mAb содержит полипептид Fc, содержащий аминокислотную последовательность полипептида Fc, указанную в таблице 7 или на фиг. 23 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями. В некоторых вариантах осуществления HuPTM mAb содержит полипептид Fc последовательности, которая представляет собой вариант последовательности полипептида Fc, представленной в таблице 7 или на фиг. 23 в том, что последовательность была модифицирована одним или несколькими способами, описанными в разделе 5.1.9, ниже, для изменения эффекторной функции полипептида Fc.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены конструкции рекомбинантного AAV, такие как конструкция, показанная на фиг. 1 или фиг. 24A, для проведения у человека генной терапии с целью экспрессии интактного или по существу интактного HuPTM mAb у субъекта. Конструкции для генной терапии сконструированы таким образом, что как тяжелая, так и легкая цепи экспрессируются в тандеме из вектора, включающего полипептид Fc-домена тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления трансген кодирует трансген с полипептидами Fab-фрагмента тяжелой и легкой цепей, как показано на одной из фиг. 2A-2C, 3, 4A-4C, 5, 6A-6C, 7A-7B, 8A-8C, 9A-9C, 10A-10D, 11, 12A-12C, 13, 14A-14B, 15, 16A-16I, 17, 18, 19 и 29A-29F или фиг. 2A-2F, 3A-3E, 4A, 4B, 5A-5C, 6, 7A, 7B, 8A-8H, 9A или 9B заявки PCT № PCT/US2018/056346, поданной 17 октября 2018 г. (копии этих фигур включены в Приложение к настоящему документу и также включены в настоящий документ посредством ссылки), но при этом содержат тяжелую цепь, которая дополнительно

содержит полипептид Fc-домена на С-конце по отношению к шарнирной области тяжелой цепи (включая соответствующий Fc-домен, указанный в таблице 7, или Fc-домен IgG1, IgG2 или IgG4, как указано на фиг. 23). В конкретных вариантах осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность - Fab-часть тяжелой цепи (включая шарнирную область) - полипептид Fc тяжелой цепи – линкер фурин-2A - сигнальная последовательность - Fab-часть легкой цепи.

Обеспечены рекомбинантные векторы AAV, которые содержат конструкции, кодирующие полноразмерные антитела. rAAV включают, но без ограничения, векторы на основе AAV, содержащие компоненты капсида из одного или более из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAVrh10 или AAVrh20. В предпочтительных вариантах осуществления векторы на основе AAV, обеспеченные в настоящем документе, содержат капсиды из одного или нескольких серотипов AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAVrh10 или AAVrh20. Серотип AAV может быть преимущественно выбран, исходя из тропизма к конкретному типу ткани, как подробно описано в настоящем документе.

Векторы rAAV, которые кодируют и экспрессируют полноразмерные терапевтические антитела, можно вводить для лечения, предупреждения или облегчения симптомов заболевания или состояния, поддающегося лечению, предупреждению или облегчению симптомов с помощью терапевтических антител. Также предусмотрены способы экспрессии HuPTM mAb в клетках человека с использованием векторов rAAV и конструкций, кодирующих их.

5.6.1. Полноразмерная экспрессия HuPTM mAb в клетках ЦНС

В конкретных вариантах осуществления для экспрессии интактного или по существу интактного mAb в типах клеток сетчатки конструкции, описанные в настоящем документе, содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, фланкирующие экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор куриного β-актина, b) интрон куриного β-актина и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие Fab тяжелой цепи анти-Aβ mAb (например, соланезумаб, леканемаб и GSK933776), анти-сортилин mAb (например, AL-001), анти-тау-белок mAb (например, ABBV-8E12, UCB-0107, NI-105 (BIIB076) и aTAU), анти-SEMA4D mAb (например, VX15/2503), анти-альфа-синуклеин mAb (например, празинезумаб, NI-202 (BIIB054) и MED-1341), анти-SOD1 mAb

(например, NI-204) или анти-CGRPR mAb (например, эптинезумаб, фреманезумаб и галканезумаб, полипептид Fc может представлять собой Fc, связанный с терапевтическим антителом (таблица 7) или того же изотипа, что и нативная форма терапевтического антитела, такая как аминокислотная последовательность изотипа IgG на фиг. 23; и Fab легкой цепи анти-Aβ mAb (например, соланезумаб, леканемаб и GSK933776), анти-сортилин mAb (например, AL-001), анти-тау-белок mAb (например, ABBV-8E12, UCB-0107, NI-105 (BIIB076) и aTAU), анти-SEMA4D mAb (например, VX15/2503), анти-альфа-синуклеин mAb (например, празинезумаб, NI-202 (BIIB054) и MED-1341), анти-SOD1 mAb (например, NI-204), или анти-CGRPR mAb (например, эптинезумаб, фреманезумаб и галканезумаб, где тяжелая цепь (полипептид Fab и Fc) и легкая цепь разделены саморасщепляющимся фурином (F)/2A или T2A, или гибким линкером, обеспечивающим экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или AAVrh10 (SEQ ID NO : 145); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий интактное или по существу интактное анти-Aβ, анти-сортилин, анти-тау-белок, анти-SEMA4D, анти-альфа-синуклеин, анти-SOD1 или анти-CGRPR mAb, функционально связанное с одной или более регуляторными последовательностями, контролирующими экспрессию трансгена в клетках ЦНС человека. Также обеспечены способы продукции HuPTM mAb и способы лечения, предупреждения или облегчения симптомов заболевания или состояний, поддающихся лечению, предупреждению или облегчению симптомов с помощью терапевтического антитела путем введения rAAV, кодирующего HuPTM mAb, или с помощью HuPTM mAb.

5.6.2 Полноразмерная экспрессия mAb в клетках печени или мышц

В конкретных вариантах осуществления для экспрессии интактного или по существу интактного mAb в типах клеток мышц или печени описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) индуцируемый промотор, предпочтительно индуцируемый гипоксией промотор, b) интрон куриного β-актина и

b) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие Fab тяжелой цепи анти-VEGF (например, севацизумаб), анти-EpoR (например, LKA-651), анти-ALK1 (например, аскринвакумаб), анти-C5 (например, тезидолумаб и равулизумаб), анти-эндоглин (например, каротуксимаб), анти-CC1Q (например, ANX-007), анти-TNFα (например, адалимумаб, инфликсимаб и голимумаб), анти-RGMa (например, елезанумаб), анти-TTR (например, NI-301 и PRX-004), анти-CTGF (например, памревлумаб), анти-IL6R (например, сатрализумаб, сарилумаб и тоцилизумаб), анти-IL6 (например, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб и герилимзумаб), анти-CD19 (например, инебилизумаб), анти-ITGF7 mAb (например, этролизумаб), анти-SOST mAb (например, ромосозумаб), анти-pKal mAb (например, ланаделумаб), анти-IL/ILR (например, бенрализумаб, реслизумаб, тралокинумаб и немолизумаб), анти-IgE (например, омализумаб) или анти-TSLP (например, тезепелумаб); полипептид Fc, связанный с терапевтическим антителом (таблица 7) или того же изотипа, что и нативная форма терапевтического антитела, такого как аминокислотная последовательность изотипа IgG на фиг.23; и легкая цепь анти-VEGF (например, севацизумаб), анти-EpoR (например, LKA-651), анти-ALK1 (например, аскринвакумаб), анти-C5 (например, тезидолумаб и равулизумаб), анти-CD105 или анти-ENG (например, каротуксимаб), анти-CC1Q (например, ANX-007), анти-TNFα (например, адалимумаб, инфликсимаб и голимумаб), анти-RGMa (например, элезанумаб), анти-TTR (например, NI-301 и PRX-004), анти-CTGF (например, памревлумаб), анти-IL6R (например, сатрализумаб, сарилумаб и тоцилизумаб), анти-IL6 (например, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб и герилимзумаб), анти-CD19 (например, инебилизумаб), анти-ITGF7 mAb (например, этролизумаб), анти-SOST mAb (например, ромосозумаб), анти-pKal mAb (например, ланаделумаб), анти-IL/ILR (например, бенрализумаб, реслизумаб, тралокинумаб и немолизумаб), анти-IgE (например, омализумаб) или анти-TSLP (например, тезепелумаб); где тяжелая цепь (Fab и Fc-область) и легкая цепь разделены саморасщепляющимся фурином (F)/F2A или T2A, или гибким линкером, обеспечивающим экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми

повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий интактное или по существу интактное анти-VEGF, анти-EpoR, анти-ALK-1, анти-Aβ, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNFα, анти-RGMa, анти-TTR, анти-CTGF, анти-CD19, анти-ITGF7, анти-SOST, анти-pKal, анти-IL6R, анти-IL6 анти-IL/ILR, анти-IgE или анти-TSLP mAb; функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышц человека.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности AAV9 (SEQ ID NO: 144); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий интактное или по существу интактное анти-VEGF, анти-EpoR, анти-Aβ, анти-ALK-1, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNFα, анти-RGMa, анти-TTR, анти-CTGF, анти-IL6R, анти-IL6, анти-CD19, анти-ITGF7, анти-SOST, анти-pKal, анти-IL/ILR, анти-ITGA4, анти-IgE или анти-TSLP mAb, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в мышечных клетках человека.

5.6.3 Полноразмерная экспрессия mAb в типах клеток сетчатки

В конкретных вариантах осуществления для экспрессии интактного или по существу интактного mAb в типах клеток сетчатки описанные в настоящем документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют экспрессионную кассету; (2) контрольные элементы, которые включают a) промотор CB7, содержащий энхансер CMV/промотор куриного β-актина, b) интрон куриного β-актина и c) сигнал поли-A β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие Fab тяжелой цепи анти-VEGF (например, севацизумаба), анти-EpoR (например, LKA-651), анти-Aβ (например, соланезумаб, леканемаб и GSK933776), анти-ALK1 (например, аскринвакумаб), анти-C5 (например, тезидолумаб, равулизумаб), анти-CD105 или анти-ENG (например, каротуксимаб), анти-CC1Q (например, ANX-007), анти-TNFα (например, адалимумаб, инфликсимаб и голимумаб), анти-IL6R (например, сатрализумаб, сарилумаб и тоцилизумаб), анти-IL6 (например, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб и герилимзумаб), анти-CD19 (например, инебилизумаб) mAb, полипептид Fc, связанный с терапевтическим антителом (таблица 6) или того же изотипа IgG, что и

нативная форма терапевтического антитела, такого как аминокислотная последовательность изотипа IgG на фиг. 23, и легкая цепь анти-VEGF (например, севацизумаб), анти-Aβ (например, соланезумаб, леканемаб и GSK933776), анти-EpoR (например, LKA-651), анти-ALK1 (например, аскринвакумаб), анти-C5 (например, тезидолумаб и равулизумаб), анти-CD105 или анти-эндоглин (например, каротуксимаб), анти-CC1Q (например, ANX-007), анти-TNFα (например, адалимумаб, инфликсимаб и голимумаб), анти-IL6R (например, сатрализумаб, сарилумаб и тоцилизумаб), анти-CD19 (например, инебилизумаб) и анти-IL6 (например, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб и герилимзумаб), где тяжелая цепь (полипептид Fab и Fc) и легкая цепь разделены саморасщепляющимся фурином (F)/F2A или гибким линкером, обеспечивающий экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция представлена на фиг. 1.

В конкретных вариантах осуществления обеспечены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142); и искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), где экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий интактное или по существу интактное анти-VEGF, анти-fD, анти-MMP9, анти-EpoR, анти-Aβ, анти-ALK-1, анти-C5, анти-ENG, анти-CC1Q, анти-TNFα, анти-IL6R, анти-IL6 или анти-CD19 mAb, функционально связанное с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в одном или более типах клеток сетчатки (таких как клетки фоторецепторов человека (клетки колбочек, клетки палочек); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амаркринные клетки; ганглиозные клетки сетчатки (клетка среднего размера, зонтичная клетка, бистратифицированная клетка, гигантская ганглиозная клетка сетчатки, светочувствительная ганглиозная клетка и глия Мюллера) и пигментные эпителиальные клетки сетчатки).

6. ПРИМЕРЫ

6.1 ПРИМЕР 1: Вектор на основе кДНК Fab соланезумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab соланезумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей соланезумаб (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно).

Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека. Нуклеотидные последовательности могут представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 71 и 72, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 2A для аминокислотной последовательность трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.2 ПРИМЕР 2: Вектор на основе кДНК Fab GSK933776

Конструируют вектор на основе кДНК Fab GSK933776, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей GSK933776 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека. Нуклеотидные последовательности могут представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 73 и 74, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 2B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.3 ПРИМЕР 3: Вектор на основе кДНК Fab AL-001

Конструируют вектор на основе кДНК Fab AL-001, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей AL-001 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 5 и 6, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять

собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 75 и 76, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 3 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.4 ПРИМЕР 4: Вектор на основе кДНК Fab ABBV-8E12

Конструируют вектор на основе кДНК Fab ABBV-8E12, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей ABBV-8E12 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 77 и 78, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 4A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно содержит конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.5 ПРИМЕР 5: Вектор на основе кДНК Fab UCB-0107

Конструируют вектор на основе кДНК Fab UCB-0107, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей UCB-0107 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 79 и 80, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют

сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 4B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно содержит конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.6 ПРИМЕР 6: Вектор на основе кДНК Fab NI-105

Конструируют вектор на основе кДНК Fab NI-105, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей NI-105 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 11 и 12, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательностью SEQ ID NO. 81 и 82, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 4C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.7 ПРИМЕР 7: Вектор на основе кДНК Fab VX15/2503

Конструируют вектор на основе кДНК Fab VX15/2503, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей VX15/2503 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 83 и 84, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь,

разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 5 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.8 ПРИМЕР 8: Вектор на основе кДНК Fab празинезумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab празинезумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей празинезумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 15 и 16, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательностью SEQ ID NO. 85 и 86, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 6A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно содержит конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.9 ПРИМЕР 9: Вектор на основе кДНК Fab NI-202

Конструируют вектор на основе кДНК Fab NI-202, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей NI-202 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 17 и 18, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека, и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 87 и 88, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 6B для аминокислотной последовательности

трансгенного продукта. Вектор дополнительно содержит конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.10 ПРИМЕР 10: Вектор на основе кДНК Fab MEDI-1341/TAK 341

Конструируют вектор на основе кДНК Fab MEDI-1341/TAK 341, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей MEDI-1341/TAK 341 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 19 и 20, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательностью SEQ ID NO: 89 и 90, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 6C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.11 ПРИМЕР 11: Вектор на основе кДНК Fab NI-204.10D12

Конструируют вектор на основе кДНК Fab NI-204.10D12, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей NI-204.10D12 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 21 и 22, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 91 и 92, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 7A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор,

такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.12 ПРИМЕР 12: Вектор на основе кДНК Fab NI-204.12G7

Конструируют вектор на основе кДНК Fab NI-204.12G7, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей NI-204.12G7 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 23 и 24, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 93 и 94, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 7B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.13 ПРИМЕР 13: Вектор на основе кДНК Fab эптинезумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab эптинезумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей эптинезумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 25 и 26, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 95 и 96, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 8A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.14 ПРИМЕР 14: Вектор на основе кДНК Fab фреманезумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab фреманезумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей фреманезумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 27 и 28, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 97 и 98, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 8B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.15 ПРИМЕР 15: Вектор на основе кДНК Fab галканезумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab галканезумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей галканезумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 29 и 30, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 99 и 100, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 8C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.16 ПРИМЕР 16: Вектор на основе кДНК Fab севацизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab севацизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей севацизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 31 и 32, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 101 и 102, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 9A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.17 ПРИМЕР 17: Вектор на основе кДНК Fab LKA-651 (NVS2)

Конструируют вектор на основе кДНК Fab LKA-651 (NVS2), содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей LKA-651 (NVS2) (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 33 и 34, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательностью SEQ ID NO. 103 и 104, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 9B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.18 ПРИМЕР 18: Вектор на основе кДНК Fab LKA-651 (NVS3)

Конструируют вектор на основе кДНК Fab LKA-651 (NVS3), содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть

последовательностей тяжелой и легкой цепей LKA-651 (NVS3) (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 35 и 36, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон- оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 105 и 106, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 9C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.19 ПРИМЕР 19: Вектор на основе кДНК Fab аскринвакумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab аскринвакумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей аскринвакумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 37 и 38, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 107 и 108, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 10A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.20 ПРИМЕР 20: Вектор на основе кДНК Fab тезидолумаба

Конструируют вектор на основе кДНК тезидолумаба Fab, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей тезидолумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 39 и 40, соответственно).

Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 109 и 110, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 10B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.21 ПРИМЕР 21: Вектор на основе кДНК Fab каротуксимаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab каротуксимаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей каротуксимаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 41 и 42, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 111 и 112, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 10C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.22 ПРИМЕР 22: Вектор на основе кДНК Fab ANX-007

Конструируют вектор на основе кДНК Fab ANX-007, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей ANX-007 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO. 43 и 44, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять

собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 113 и 114, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 11 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.23 ПРИМЕР 23: Вектор на основе кДНК Fab адалимумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab адалимумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей адалимумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 45 и 46, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 115 и 116, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 12A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.24 ПРИМЕР 24: Вектор на основе кДНК Fab инфликсимаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab инфликсимаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей инфликсимаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 47 и 48, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 117 и 118, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют

сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 12B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.25 ПРИМЕР 25: Вектор на основе кДНК Fab голимумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab голимумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей голимумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 49 и 50, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 119 и 120, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 12C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.26 ПРИМЕР 26: Вектор на основе кДНК Fab елезанумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab елезанумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей елезанумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 51 и 52, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 121 и 122, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь,

разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 13 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.27 ПРИМЕР 27: Вектор на основе кДНК Fab NI-301

Конструируют вектор на основе кДНК Fab NI-301, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей NI-301 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 53 и 54, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 123 и 124, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие сигнальный пептид, например MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 14A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.28 ПРИМЕР 28: Вектор на основе кДНК Fab PRX-004

Конструируют вектор на основе кДНК Fab PRX-004, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей PRX-004 (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 55 и 56, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 125 и 126, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие сигнальный пептид, например MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 14B для аминокислотной последовательности

трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.29 ПРИМЕР 29: Вектор на основе кДНК Fab памревлумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab памревлумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей памревлумаба (аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 57 и 58, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 127 и 128, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 15 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.30 ПРИМЕР 30: Вектор на основе кДНК Fab сатрализумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab сатрализумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей сатрализумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 59 и 60, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепей, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 129 и 130, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 16A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает

конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.31 ПРИМЕР 31: Вектор на основе кДНК Fab сарилумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab сарилумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей сарилумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 61 и 62, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 131 и 132, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 16B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.32 ПРИМЕР 32: Вектор на основе кДНК Fab инебилизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab инебилизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей инебилизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 63 и 64, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 133 и 134, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 16C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.33 ПРИМЕР 33: Вектор на основе кДНК Fab этролизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab этролизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей этролизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 65 и 66, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, кодон-оптимизирована для экспрессии в клетках ЦНС человека и может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 135 и 136, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 17 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.34 ПРИМЕР 34: Вектор на основе кДНК Fab ромосозумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab ромосозумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей ромосозумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 67 и 68, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 137 и 138, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 18 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.35 ПРИМЕР 35: Вектор на основе кДНК Fab силтуксимаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab силтуксимаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть

последовательностей тяжелой и легкой цепей силтуксимаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 331 и 332, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 343 и 344, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 16C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.36 ПРИМЕР 36: Вектор на основе кДНК Fab клазакизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab клазакизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей клазакизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 333 и 334, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 345 и 346, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 16D для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.37 ПРИМЕР 37: Вектор на основе кДНК Fab сирукумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab сирукумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей сирукумаба (аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 335 и 336, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 347 и 348,

соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 16E для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.38 ПРИМЕР 38: Вектор на основе кДНК Fab олокизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab олокизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей олокизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 337 и 338, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 349 и 350, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 16F для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.39 ПРИМЕР 39: Вектор на основе кДНК Fab герилимзумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab герилимзумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей герилимзумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 339 и 340, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 351 и 352, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для

создания бицистронного вектора. См. фиг. 16G для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.40 ПРИМЕР 40: Вектор на основе кДНК Fab тоцилизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab тоцилизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей тоцилизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 341 и 342, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 353 и 354, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 16H для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.41 ПРИМЕР 41: Вектор на основе кДНК Fab леканемаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab леканемаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей леканемаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 360 и 361, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 376 и 377, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 2C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.42 ПРИМЕР 42: Вектор на основе кДНК Fab равулизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab равулизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей равулизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 362 и 363, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 378 и 379, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 10D для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.43 ПРИМЕР 43: Вектор на основе кДНК Fab бенрализумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab бенрализумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей бенрализумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 364 и 365, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 380 и 381, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 29A для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.44 ПРИМЕР 44: Вектор на основе кДНК Fab реслизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab реслизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей реслизумаба (аминокислотные

последовательности представляют собой SEQ ID NO: 366 и 367, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 382 и 383, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 29B для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.45 ПРИМЕР 45: Вектор на основе кДНК Fab тралокинумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab тралокинумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей тралокинумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 368 и 369, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 384 и 385, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 29C для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.46 ПРИМЕР 46: Вектор на основе кДНК Fab немолизумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab немолизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей немолизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 370 и 371, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 386 и 387, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые

кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 29D для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.47 ПРИМЕР 47: Вектор на основе кДНК Fab омализумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab омализумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей омализумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 372 и 373, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 388 и 389, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 29E для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.48 ПРИМЕР 48: Вектор на основе кДНК Fab тезепелумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab тезепелумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей тезепелумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 374 и 375, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 390 и 391, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 29F для аминокислотной

последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.49 ПРИМЕР 49: Вектор на основе кДНК Fab ланаделумаба

Конструируют вектор на основе кДНК Fab ланаделумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие Fab-часть последовательностей тяжелой и легкой цепей ланаделумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 69 и 70, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая Fab-часть тяжелой и легкой цепи, может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 139 и 140, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяются элементами IRES или сайтами расщепления 2A (SEQ ID NO: 227-230) для создания бицистронного вектора. См. фиг. 19 для аминокислотной последовательности трансгенного продукта. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CB7, или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

6.50 ПРИМЕР 50: Анализ экспрессии белка ланаделумаба в клеточных лизатах и супернатанте

Исследования клеточных культур проводили для оценки экспрессии последовательностей полноразмерных mAb (содержащих Fc-область) из конструкций AAV в клетках человека.

Способы

Был сконструирован вектор на основе кДНК ланаделумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую последовательности тяжелой и легкой цепей ланаделумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 69 и 70, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую и легкую цепь ланаделумаба, кодон-оптимизировали для создания трех нуклеотидных последовательностей, представленных в таблице 8 ниже: L01 (SEQ ID NO: 141), L02 (SEQ ID NO: 286) и L03 (SEQ ID HET: 287). L02 и L03 также снижают количество димеров CpG в последовательности. Трансген также содержал нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 146).

Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделялись линкером фурин-F2A (SEQ ID NO: 231) или линкером фурин T2A (SEQ ID NO: 429) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включал конститутивный промотор CAG (SEQ ID NO: 411). См. фиг. 24A для схематического изображения геномной конфигурации, и последовательности конструкций представлены в таблице 8 (SEQ ID NO: 435-437).

В таблице 1 выше представлены последовательности композиционных регуляторных последовательностей нуклеиновых кислот, которые могут быть включены в экспрессионные кассеты и функционально связаны с трансгеном для стимулирования печень-специфической экспрессии (LSPX1, LSPX2, LTP1, LTP2 или LTP3, SEQ ID NOS: 315-319, соответственно), экспрессии в печени и мышцах (LMTP6, LMTP13, LMTP15, LMTP18, LMTP19 или LMTP20, SEQ ID NO: 320-326 соответственно), экспрессии в печени и костной ткани (LTBP1 или LPTP2, SEQ ID NO: 327-328, соответственно). Другие представленные последовательности промоторов включают промотор ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412, таблица 1 выше), где четыре копии специфического для печени энхансера аполипопротеина E (ApoE) размещены выше промотора альфа-1-антитрипсина человека (hAAT)).

Таблица 8

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
L01 SEQ ID NO: 141	ATGTACCGGATGCAGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATAGC GAAGTCCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTTGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTG AGCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCCACTATATCATGATGTGGGTCCGACAGGCC CCTGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGGCATCTATAGCAGCGGCGGCATCACAGTGTAC GCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCTATAGAAGA ATCGGCGTGCCCAGACGGGACGAGTTCGATATTTGGGGCCAGGGCACCATGGTCACCGTG TCTAGCGCCTCTACAAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTAGCAGCAAGAGCACA AGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTTCCCGAGCCTGTGACC GTGTCCTGGAATAGCGGAGCACTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAA AGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTGGTCACAGTGCCAAGCTCTAGCCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTG GAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTC GGCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGA ACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTC AATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAG TACAACAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAAC GGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAGAAAACC ATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCCGG GAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGGCTTCTACCCTTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCAGAGAACAACTACAAGACAACCCCT CCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAGAGTCTGAGCCTGTCTCCAGGCCTGCGGAAGAGAAGGGCTCCTGTGAAG CAGACCCTGAACTTCGACCTGCTGAAACTGGCCGGCGACGTGGAAAGCAACCCCGGACCT ATGTATAGAATGCAGCTCCTCCTGCTGATCGCACTGAGCCTGGCTCTCGTGACCAACAGC

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	GACATCCAGATGACACAGAGCCCCAGCACACTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGTCCATCTCCTCTTGGCTGGCCTGGTATCAGCAAAAGCCT GGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACAAGGCCTCCACACTGGAAAGCGGGGTGCCCTCC AGATTTTCTGGCAGCGGATCTGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCAGTAGCCTGCAGCCT GACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAATACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGA ACAAAGGTGGAAATCAAGCGGACTGTGGCCGCTCCAAGCGTGTTCATCTTTCCACCTAGC GACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCC AGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACTCCCAAGAG AGCGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCCTGTCTAGCACCCTGACACTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTT AGCTCTCCAGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGTTGATAA
L02 SEQ ID NO: 286	ATGTACAGAATGCAGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATTCT GAGGTCCAGCTGCTTGAGAGTGGTGGTGGACTGGTTCAGCCTGGTGGCAGCCTGAGACTG TCTTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCCACTATATCATGATGTGGGTCAGACAGGCC CCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCAGGCATCTACAGCAGTGGTGGCATCACAGTGTAT GCTGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCAGAGACAACAGCAAGAACACCCTGTAC CTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACTGTGCCTATAGAAGA ATTGGGGTGCCCAGAAGGGATGAGTTTGACATCTGGGGCCAGGGCACCATGGTTACAGTG TCCTCTGCCAGCACAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCAAGAGCACC AGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACT GTGTCCTGGAACTCTGGGGCTCTGACTTCTGGGGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAG TCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACA CAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTG GAACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTT GGAGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGA ACCCCTGAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGATGTGTCCCATGAGGACCCAGAAGTGAAGTTC AATTGGTATGTGGATGGGGTTGAAGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAG TACAACAGCACCTACAGAGTGGTTTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAGAAAACC ATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCCAGGTTTACACCCTGCCACCTAGCAGA GAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCCTCT GACATTGCTGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAAAACAACTACAAGACAACCCCT CCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACTGTGGACAAGTCC AGATGGCAGCAGGGAAATGTGTTCAGCTGCTCTGTGATGCATGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAAAGTCTGTCTCTGTCCCCTGGCAGAAAGAGAAGAGGCTCTGGAGAAGGC AGAGGCTCCCTGCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATGTATAGGATG CAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTCTTGTGACCAACTCTGACATCCAGATG ACACAGAGCCCCTCCACACTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA GCCAGCCAGTCTATCTCTAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAAAAGCCTGGCAAGGCCCCT AAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACACTTGAGTCAGGGGTGCCCTCCAGATTTTCTGGC TCTGGATCTGGCACAGAGTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCAGATGACTTTGCC ACCTACTACTGCCAGCAGTACAATACCTACTGGACCTTTGGCCAGGGAACAAAGGTGGAA ATCAAGAGAACAGTGGCTGCCCCATCTGTGTTCATCTTCCCACCATCTGATGAACAGCTG AAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAACTTTTACCCCAGAGAAGCCAAG GTGCAGTGGAAAGTGGATAATGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAAGAATCTGTGACAGAG CAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACACTGAGCAAGGCTGAC TATGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACACACCAGGGACTGAGCAGCCCAGTG ACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCTGATAA
L03 SEQ ID NO: 287	ATGTACAGAATGCAGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATTCT GAGGTCCAGCTGCTTGAGAGTGGTGGTGGACTGGTTCAGCCTGGTGGCAGCCTGAGACTG TCTTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTCAGCCACTATATCATGATGTGGGTCAGACAGGCC CCTGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGTCAGGCATCTACAGCAGTGGTGGCATCACAGTGTAT GCTGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCAGAGACAACAGCAAGAACACCCTGTAC CTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACTGTGCCTATAGAAGA ATTGGGGTGCCCAGAAGGGATGAGTTTGACATCTGGGGCCAGGGCACCATGGTTACAGTG TCCTCTGCCAGCACAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCAAGAGCACC AGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACT

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	GTGTCCTGGAACTCTGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAG TCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACA CAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTG GAACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTT GGAGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGA ACCCCTGAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGATGTGTCCCATGAGGACCCAGAAGTGAAGTTC AATTGGTATGTGGATGGGGTTGAAGTGCACAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAG TACAACAGCACCTACAGAGTGGTTTCTGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAGAAAACC ATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCCAGGTTTACACCCTGCCACCTAGCAGA GAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCCTCT GACATTGCTGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAAAACAACTACAAGACAACCCCT CCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACTGTGGACAAGTCC AGATGGCAGCAGGGAAATGTGTTCAGCTGCTCTGTGATGCATGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAAAGTCTGTCTCTGTCCCCTGGCAGAAAGAGAAGAGGATCAGGGGCCCCA GTGAAGCAGACCCTGAACTTTGATCTGCTGAAGCTGGCTGGGGATGTTGAGAGCAACCCT GGACCTATGTATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTCTTGTGACC AACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCCTCCACACTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGA GTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGTCTATCTCTTCCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAA AAGCCTGGCAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACACTTGAGTCAGGGGTG CCCTCCAGATTTTCTGGCTCTGGATCTGGCACAGAGTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTG CAGCCAGATGACTTTGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAATACCTACTGGACCTTTGGC CAGGGAACAAAGGTGGAAATCAAGAGAACAGTGGCTGCCCCATCTGTGTTCATCTTCCCA CCATCTGATGAACAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAACTTT TACCCTAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGATAATGCCCTGCAGTCTGGCAATAGC CAAGAATCTGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACACTGAGCAAGGCTGACTATGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACACACCAG GGACTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCTGATAA
CAG.LAN.F2A (CAG.L01) SEQ ID NO: 435	ctagtcgacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtcattagttc atagcccatatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgac cgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaa tagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcag tacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggc ccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatct acgtattagtcatcgctattaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctcc ccatctccccccctccccacccccaattttgtatttatttatttttttaattattttgtg cagcgatgggggcgggggggggggggggcgcgccaggcggggcggggcggggcgagg ggcggggcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaa agtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcccctataaaaagcgaagcgcgcggc gggcgggagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgccgcctcgcgcc gcccgccccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttt ctcctccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggcttgtttcttttctgtggctgc gtgaaagccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcgggggtg cgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgctgcccggcggctgtg agcgctgcgggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcgcgaggggagcgcgg ccgggggcggtgccccgcggtgcgggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggg gtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggggtgtgggcgcgtcggtcgggctgcaacccccccc tgcacccccctccccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggggctccgtacgg ggcgtggcgcggggctcgccgtgccgggcgggggggtggcggcaggtgggggtgccgggcg gggcggggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggggcgcggcggcccccggagcg ccggcggctgtcgaggcgcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgtgcgaga gggcgcagggacttcctttgtcccaaatctgtgcggagccgaaatctgggaggcgccgcc gcaccccctctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcg gggagggccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtcccctttctcccctctccagcctcggggct gtccgcgggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggc gtgtgaccggcggctctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttcttttttcctac agctcctgggcaacgtgctggttattgtgctgtctcatcattttggcaaagaattcgcta gcgggcactttgcactggaacttacaacacccgagcaaggacgcgactctccaccatgta

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	ccggatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaatagcgaagt ccagctgctggaatctggcggcggacttgttcaacctggcggctctctgagactgagctg tgccgcttccggcttcaccttcagccactatatcatgatgtgggtccgacaggcccctgg caaaggccttgaatgggtgtccggcatctatagcagcggcggcatcacagtgtacgccga ctctgtgaagggcagattcaccatcagccgggacaacagcaagaacaccctgtacctgca gatgaacagcctgagagccgaggacaccgccgtgtactactgcgcctatagaagaatcgg cgtgcccagacgggacgagttcgatatttggggccagggcaccatggtcaccgtgtctag cgcctctacaaagggccctagcgtgttccctctggctcctagcagcaagagcacaagcgg aggaacagccgctctgggctgtctggtcaaggactactttcccgagcctgtgaccgtgtc ctggaatagcggagcactgacaagcggcgtgcacacctttccagctgtgctgcaaagcag cggcctgtactctctgagcagcgtggtcacagtgccaagctctagcctgggcacccagac ctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtggaacc caagagctgcgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcgg accttccgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaacccc tgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccacgaggatcccgaagtgaagttcaattg gtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaa cagcacctacagagtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaa agagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctatcgagaaaaccatcag caaggccaagggccagcctagggaaccccaggtttacacactgcctccaagccgggaaga gatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctcgtgaagggcttctacccttccgatat cgccgtggaatgggagagcaatggccagccagagaacaactacaagacaacccctcctgt gctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgacagtggacaagtccagatg gcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacac ccagaagagtctgagcctgtctccaggcctgcggaagagaagggctcctgtgaagcagac cctgaacttcgacctgctgaaactggccggcgacgtggaaagcaaccccggacctatgta tagaatgcagctcctcctgctgatcgcactgagcctggctctcgtgaccaacagcgacat ccagatgacacagagccccagcacactgtctgccagcgtgggagacagagtgaccatcac ctgtagagccagccagtccatctcctcttggctggcctggtatcagcaaaagcctggcaa ggcccctaagctgctgatctacaaggcctccacactggaaagcggggtgccctccagatt ttctggcagcggatctggcaccgagttcaccctgaccatcagtagcctgcagcctgacga cttcgccacctactactgccagcagtacaatacctactggaccttcggccagggaacaaa ggtggaaatcaagcggactgtggccgctccaagcgtgttcatctttccacctagcgacga gcagctgaagtccggcacagcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttctaccccagaga agccaaggtgcagtggaaagtggacaatgccctgcagagcggcaactcccaagagagcgt gacagagcaggactccaaggattccacctacagcctgtctagcaccctgacactgagcaa ggccgactacgagaagcacaaagtgtatgcctgcgaagtgacccaccagggccttagctc tccagtgaccaagagcttcaaccggggcgagtgttgataaagcggccgcggtacctctag agtcgacccgggcggcctcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatctttttcc ctctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaata aaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactcg
CAG.LANv2.F2A (CAG.L03) SEQ ID NO: 436	gacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcc catatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccca acgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaataggga ctttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatc aagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcct ggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtat tagtcatcgctattaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatct ccccccccctccccaccccaattttgtatttatttatttttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggggcgcgcgccaggcggggcggggcggggcgaggggcggg gcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttc cttttatggcgaggcggcggcggcggcggccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgg gagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgccgcctcgcgccgcccgc cccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcctc cgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggcttgtttcttttctgtggctgcgtgaaa gccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcgggggggtgcgtgcg tgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgct gcgggcgcggcgcgggggctttgtgcgctccgcagtgtgcgcgaggggagcgcggccgggg gcggtgccccgcggtgcgggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggggtgtgt

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	gcgtgggggggtgagcaggggtgtgggcgcgtcggtcgggctgcaacccccccctgcacc cccctccccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggggctccgtacggggcgtg gcgcggggctcgccgtgccgggcgggggggtggcggcaggtgggggtgccgggcggggcgg ggccgcctcgggccgggggagggctcgggggaggggcgcggcggcccccggagcgccggcg gctgtcgaggcgcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgtgcgagagggcgc agggacttcctttgtcccaaatctgtgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcaccc cctctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggggagg gccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtccccttctccctctccagcctcggggctgtccgc gggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggcgtgtga ccggcggctctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttctttttcctacagctcc tgggcaacgtgctggttattgtgctgtctcatcattttggcaaagaattcgccgccacca tgtacagaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattctg aggtccagctgcttgagagtggtggtggactggttcagcctggtggcagcctgagactgt cttgtgctgcctctggcttcaccttcagccactatatcatgatgtgggtcagacaggccc ctggcaaaggcctggaatgggtgtcaggcatctacagcagtggtggcatcacagtgtatg ctgactctgtgaagggcagattcaccatcagcagagacaacagcaagaacaccctgtacc tgcagatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgcctatagaagaa ttggggtgcccagaagggatgagtttgacatctggggccagggcaccatggttacagtgt cctctgccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcacca gtggtggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgactg tgtcctggaactctggggctctgacctctggggtgcacacctttccagctgtgctgcagt cctctggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacac agacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtgg aacccaagagctgtgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgcttg gaggcccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaa cccctgaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttca attggtatgtggatggggttgaagtgcacaatgccaagaccaagcctagaggaggaacagt acaacagcacctacagagtggtttctgtgctgacagtgctgcaccaggactggctgaatg gcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaacca tctccaaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacaccctgccacctagcagag aagagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctg acattgctgtggaatgggagagcaatggccagcctgaaaacaactacaagacaacccctc ctgtgctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtcca gatggcagcagggaaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccact acacccagaaaagtctgtctctgtcccctggcagaaagagaagaggatcaggggccccag tgaagcagaccctgaactttgatctgctgaagctggctggggatgttgagagcaaccctg gacctatgtataggatgcaactgctcctcctgattgctctgagcctggctcttgtgacca actctgacatccagatgacacagagcccctccacactgtctgcatctgtgggagacagag tgaccatcacctgtagagccagccagtctatctcttcctggctggcctggtatcagcaaa agcctggcaaggcccctaagctgctgatctacaaggccagcacacttgagtcaggggtgc cctccagattttctggctctggatctggcacagagttcaccctgaccatcagctccctgc agccagatgactttgccacctactactgccagcagtacaatacctactggacctttggcc agggaacaaaggtggaaatcaagagaacagtggctgccccatctgtgttcatcttcccac catctgatgaacagctgaagtctggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttttt accctagagaagccaaggtgcagtggaaagtggataatgccctgcagtctggcaatagcc aagaatctgtgacagagcaggactccaaggattccacctacagcctgagcagcaccctga cactgagcaaggctgactatgagaagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacacaccagg gactgagcagcccagtgaccaagagcttcaacaggggagagtgctgataactcgaggacg gggtgaactacgcctgaggatccgatctttttccctctgccaaaaattatggggacatca tgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatag tgtgttggaatttttttgtgtctctca
CAG.LANv2.T2A (CAG.L02) SEQ ID NO: 437	gacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcc catatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccca acgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaataggga ctttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatc aagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcct ggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtat tagtcatcgctattaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatct

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	ccccccctccccacccccaattttgtatttatttatttttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggggcgcgcgccaggcggggcggggcggggcgagggggcggg gcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttc cttttatggcgaggcggcggcggcggcggccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgg gagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgccgcctcgcgccgcccgc cccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcctc cgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggcttgtttcttttctgtggctgcgtgaaa gccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggagcggctcgggggggtgcgtgcg tgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgct gcgggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcgcgaggggagcgcggccgggg gcggtgccccgcggtgcgggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggggtgtgt gcgtgggggggtgagcaggggggtgtgggcgcgtcggtcgggctgcaacccccccctgcacc cccctccccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggggctccgtacggggcgtg gcgcggggctcgccgtgccgggcgggggggtggcggcaggtgggggtgccgggcggggcgg ggccgcctcgggccgggggagggctcgggggagggggcgcggcggccccccggagcgccggcg gctgtcgaggcgcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgtgcgagagggcgc agggacttcctttgtcccaaatctgtgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcaccc cctctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggggagg gccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtccccttctccctctccagcctcggggctgtccgc ggggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggcgtgtga ccggcggctctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttctttttcctacagctcc tgggcaacgtgctggttattgtgctgtctcatcattttggcaaagaattcgccgccacca tgtacagaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattctg aggtccagctgcttgagagtggtggtggactggttcagcctggtggcagcctgagactgt cttgtgctgcctctggcttcaccttcagccactatatcatgatgtgggtcagacaggccc ctggcaaaggcctggaatgggtgtcaggcatctacagcagtggtggcatcacagtgtatg ctgactctgtgaagggcagattcaccatcagcagagacaacagcaagaacaccctgtacc tgcagatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgcctatagaagaa ttggggtgcccagaagggatgagtttgacatctggggccagggcaccatggttacagtgt cctctgccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcacca gtggtggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgactg tgtcctggaactctggggctctgacttctggggtgcacacctttccagctgtgctgcagt cctctggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacac agacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtgg aacccaagagctgtgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgcttg gaggcccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaa cccctgaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttca attggtatgtggatggggttgaagtgcacaatgccaagaccaagcctagagaggaacagt acaacagcacctacagagtggtttctgtgctgacagtgctgcaccaggactggctgaatg gcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaacca tctccaaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacaccctgccacctagcagag aagagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctg acattgctgtggaatgggagagcaatggccagcctgaaaacaactacaagacaacccctc ctgtgctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtcca gatggcagcagggaaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccact acacccagaaaagtctgtctctgtcccctggcagaaagagaagaggctctggagaaggca gaggctccctgctgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatgc aactgctcctcctgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatga cacagagcccctccacactgtctgcatctgtgggagacagagtgaccatcacctgtagag ccagccagtctatctctagctggctggcctggtatcagcaaaagcctggcaaggccccta agctgctgatctacaaggccagcacacttgagtcaggggtgccctccagattttctggct ctggatctggcacagagttcaccctgaccatcagctccctgcagccagatgactttgcca cctactactgccagcagtacaatacctactggacctttggccagggaacaaaggtggaaa tcaagagaacagtggctgccccatctgtgttcatcttcccaccatctgatgaacagctga agtctggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttttaccccagagaagccaagg tgcagtggaaagtggataatgccctgcagtctggcaatagccaagaatctgtgacagagc aggactccaaggattccacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgact atgagaagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacacaccagggactgagcagcccagtga ccaagagcttcaacaggggagagtgctgataactcgaggacggggtgaactacgcctgag

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	gatccgatcttttccctctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatc tgacttctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgt gtctctcactcg
TBG.LANv2.T2A (TBG.L02) SEQ ID NO: 438	aggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctc tgtttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaa aaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgtttgctctggtt aataatctcaggagcacaaacattccagatccggcgcgccagggctggaagctacctttg acatcatttcctctgcgaatgcatgtataatttctacagaacctattagaaaggatcacc cagcctctgcttttgtacaactttcccttaaaaaactgccaattccactgctgtttggcc caatagtgagaacttttttcctgctgcctcttggtgcttttgcctatggcccctattctgc ctgctgaagacactcttgccagcatggacttaaacccctccagctctgacaatcctctttt ctcttttgttttacatgaagggtctggcagccaaagcaatcactcaaagttcaaaccttta tcatttttttgctttgttcctcttggccttggttttgtacatcagctttgaaaataccatc ccagggttaatgctggggttaatttataactaagagtgctctagttttgcaatacaggac atgctataaaaatggaaagatgttgctttctgagagacagctttattgcggtagtttatc acagttaaattgctaacgcagtcagtgcttctgacacaacagtctcgaacttaagctgca gaagttggtcgtgaggcactgggcaggtaagtatcaaggttacaagacaggtttaaggag accaatagaaactgggcttgtcgagacagagaagactcttgcgtttctgataggcaccta ttggtcttactgacatccactttgcctttctctccacaggtgtccactcccagttcaatt acagctcttaaggctagagtacttaatacgactcactataggctagcctcgagaattcac gcgtgccgccaccatgtacagaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccct ggtcaccaattctgaggtccagctgcttgagagtggtggtggactggttcagcctggtgg cagcctgagactgtcttgtgctgcctctggcttcaccttcagccactatatcatgatgtg ggtcagacaggcccctggcaaaggcctggaatgggtgtcaggcatctacagcagtggtgg catcacagtgtatgctgactctgtgaagggcagattcaccatcagcagagacaacagcaa gaacaccctgtacctgcagatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactg tgcctatagaagaattggggtgcccagaagggatgagtttgacatctggggccagggcac catggttacagtgtcctctgccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccag cagcaagagcaccagtggtggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccc tgagcctgtgactgtgtcctggaactctggggctctgacttctggggtgcacacctttcc agctgtgctgcagtcctctggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctc tagcctgggcacacagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggt ggacaagagagtggaacccaagagctgtgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgc tccagaactgcttggaggcccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccct gatgatcagcagaacccctgaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggaccc agaagtgaagttcaattggtatgtggatggggttgaagtgcacaatgccaagaccaagcc tagagaggaacagtacaacagcacctacagagtggtttctgtgctgacagtgctgcacca ggactggctgaatggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcc tattgagaaaaccatctccaaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacaccct gccacctagcagagaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaaggg cttctacccctctgacattgctgtggaatgggagagcaatggccagcctgaaaacaacta caagacaacccctcctgtgctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctgac tgtggacaagtccagatggcagcagggaaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggc cctgcacaaccactacacccagaaaagtctgtctctgtcccctggcagaaagagaagagg ctctggagaaggcagaggctccctgctgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcc tatgtataggatgcaactgctcctcctgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactc tgacatccagatgacacagagcccctccacactgtctgcatctgtgggagacagagtgac catcacctgtagagccagccagtctatctctagctggctggcctggtatcagcaaaagcc tggcaaggcccctaagctgctgatctacaaggccagcacacttgagtcaggggtgccctc cagattttctggctctggatctggcacagagttcaccctgaccatcagctccctgcagcc agatgactttgccacctactactgccagcagtacaatacctactggacctttggccaggg aacaaaggtggaaatcaagagaacagtggctgccccatctgtgttcatcttcccaccatc tgatgaacagctgaagtctggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttttaccc cagagaagccaaggtgcagtggaaagtggataatgccctgcagtctggcaatagccaaga atctgtgacagagcaggactccaaggattccacctacagcctgagcagcaccctgacact gagcaaggctgactatgagaagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacacaccagggact gagcagcccagtgaccaagagcttcaacaggggagagtgctgataagtcgacccgggcgg cctcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatcttttccctctgccaaaaatta

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	tggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttatttt cattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctca
ApoE.hAAT.LANv 2.T2A (ApoE.hAAT.L02) SEQ ID NO: 439	ggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccttccaaccctcagttcc catcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcct actcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctcc ctgcctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacct ccaacatccactcgacccccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgtg gtttaggtagtgtgagaggggtacccggggatcttgctaccagtggaacagccactaagg attctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctcccagagactgtctgactca cgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacaatgactc ctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtagg cgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataactgggg tgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctggatccactgcttaa atacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggaca gtcaggtaagtatcaaggttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactgggcttgt cgagacagagaagactcttgcgtttctgataggcacctattggtcttactgacatccact ttgcctttctctccacaggttcgaattcgccgccaccatgtacagaatgcagctgctgct gctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattctgaggtccagctgcttgagagtgg tggtggactggttcagcctggtggcagcctgagactgtcttgtgctgcctctggcttcac cttcagccactatatcatgatgtgggtcagacaggcccctggcaaaggcctggaatgggt gtcaggcatctacagcagtggtggcatcacagtgtatgctgactctgtgaagggcagatt caccatcagcagagacaacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaactccctgagagc tgaggacacagcagtgtactactgtgcctatagaagaattggggtgcccagaagggatga gtttgacatctggggccagggcaccatggttacagtgtcctctgccagcacaaagggccc ctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagtggtggaacagctgccctggg ctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgactgtgtcctggaactctggggctct gacttctggggtgcacacctttccagctgtgctgcagtcctctggcctgtactctctgtc ctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacacagacctacatctgcaatgtgaa ccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtggaacccaagagctgtgacaagac ccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgcttggaggcccttctgtgttcctgtt tcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaacccctgaagtgacctgtgtggt ggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttcaattggtatgtggatggggttga agtgcacaatgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaacagcacctacagagtggt ttctgtgctgacagtgctgcaccaggactggctgaatggcaaagagtacaagtgcaaggt gtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaaccatctccaaggccaagggccagcc aagagaaccccaggtttacaccctgccacctagcagagaagagatgaccaagaaccaggt gtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctgacattgctgtggaatgggagag caatggccagcctgaaaacaactacaagacaacccctcctgtgctggactctgatggctc attcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtccagatggcagcagggaaatgtgtt cagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccactacacccagaaaagtctgtctct gtcccctggcagaaagagaagaggctctggagaaggcagaggctccctgctgacatgtgg ggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatgcaactgctcctcctgattgctct gagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatgacacagagcccctccacactgtc tgcatctgtgggagacagagtgaccatcacctgtagagccagccagtctatctctagctg gctggcctggtatcagcaaaagcctggcaaggcccctaagctgctgatctacaaggccag cacacttgagtcaggggtgccctccagattttctggctctggatctggcacagagttcac cctgaccatcagctccctgcagccagatgactttgccacctactactgccagcagtacaa tacctactggacctttggccagggaacaaaggtggaaatcaagagaacagtggctgcccc atctgtgttcatcttcccaccatctgatgaacagctgaagtctggcactgcctctgttgt gtgcctgctgaacaacttttaccccagagaagccaaggtgcagtggaaagtggataatgc cctgcagtctggcaatagccaagaatctgtgacagagcaggactccaaggattccaccta cagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgactatgagaagcacaaagtgtatgc ctgtgaagtgacacaccagggactgagcagcccagtgaccaagagcttcaacaggggaga gtgctgataactcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatcttttccctctgc caaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaa atttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctca
LSPX1.LANv2.T2	aggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctc

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
A (LSPX.L02) SEQ ID NO: 440	tgtttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaa aaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgtttgctctggtt aataatctcaggagcacaaacattccagatccggcgcgccagggctggaagctacctttg tctagaaggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccccttccaacccct cagttcccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaact tcagcctactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacaca gccctccctgcctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccat gccacctccaacatccactcgacccccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcc tggcgtggtttaggtagtgtgagaggggtacccggggatcttgctaccagtggaacagcc actaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctcccagagactgtc tgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtaca atgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggca gcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgata actggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctggatccac tgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacc tgggacagtcaggtaagtatcaaggttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactg ggcttgtcgagacagagaagactcttgcgtttctgataggcacctattggtcttactgac atccactttgcctttctctccacaggttgaattcgccgccaccatgtacagaatgcagct gctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattctgaggtccagctgcttga gagtggtggtggactggttcagcctggtggcagcctgagactgtcttgtgctgcctctgg cttcaccttcagccactatatcatgatgtgggtcagacaggcccctggcaaaggcctgga atgggtgtcaggcatctacagcagtggtggcatcacagtgtatgctgactctgtgaaggg cagattcaccatcagcagagacaacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaactccct gagagctgaggacacagcagtgtactactgtgcctatagaagaattggggtgcccagaag ggatgagtttgacatctggggccagggcaccatggttacagtgtcctctgccagcacaaa gggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagtggtggaacagctgc cctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgactgtgtcctggaactctgg ggctctgacttctggggtgcacacctttccagctgtgctgcagtcctctggcctgtactc tctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacacagacctacatctgcaa tgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtggaacccaagagctgtga caagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgcttggaggcccttctgtgtt cctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaacccctgaagtgacctg tgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttcaattggtatgtggatgg ggttgaagtgcacaatgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaacagcacctacag agtggtttctgtgctgacagtgctgcaccaggactggctgaatggcaaagagtacaagtg caaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaaccatctccaaggccaaggg ccagccaagagaaccccaggtttacaccctgccacctagcagagaagagatgaccaagaa ccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctgacattgctgtggaatg ggagagcaatggccagcctgaaaacaactacaagacaacccctcctgtgctggactctga tggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtccagatggcagcagggaaa tgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccactacacccagaaaagtct gtctctgtcccctggcagaaagagaagaggctctggagaaggcagaggctccctgctgac atgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatgcaactgctcctcctgat tgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatgacacagagcccctccac actgtctgcatctgtgggagacagagtgaccatcacctgtagagccagccagtctatctc tagctggctggcctggtatcagcaaaagcctggcaaggcccctaagctgctgatctacaa ggccagcacacttgagtcaggggtgccctccagattttctggctctggatctggcacaga gttcaccctgaccatcagctccctgcagccagatgactttgccacctactactgccagca gtacaatacctactggacctttggccagggaacaaaggtggaaatcaagagaacagtggc tgccccatctgtgttcatcttcccaccatctgatgaacagctgaagtctggcactgcctc tgttgtgtgcctgctgaacaacttttaccccagagaagccaaggtgcagtggaaagtgga taatgccctgcagtctggcaatagccaagaatctgtgacagagcaggactccaaggattc cacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgactatgagaagcacaaagt gtatgcctgtgaagtgacacaccagggactgagcagcccagtgaccaagagcttcaacag gggagagtgctgataactcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatctttttcc ctctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaata aaggaaatttatttttcattgcaatagtgtgttggaatttttttgtgtctctca
LSPX2.LANv2.T2	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccccttccaaccccctcagttc

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
A (LSPX2.L02) SEQ ID NO: 441 SEQ ID NO:	ccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctc cctgcctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacc tccaacatccactcgacccccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgt ggtttaggtagtgtgagagggtctagaaggctcagaggcacacaggagtttctgggctca ccctgccccctccaaccccctcagttcccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctct gaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaa gcagcaaacagcaaacacacagccctccctgcctgctgaccttggagctggggcagaggt cagagacctctctgggcccatgccacctccaacatccactcgacccccttggaatttcggt ggagaggagcagaggttgtcctggcgtggtttaggtagtgtgagaggggtacccggggat cttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagt ggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgct gtggtttctgagccaggtacaatgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactg cccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttag cccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctccc ccgttgcccctctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcag cttcaggcaccaccactgacctgggacagtcaggtaagtatcaaggttacaagacaggtt taaggagaccaatagaaactgggcttgtcgagacagagaagactcttgcgtttctgatag gcacctattggtcttactgacatccactttgcctttctctccacaggttgaattcgccgc caccatgtacagaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaa ttctgaggtccagctgcttgagagtggtggtggactggttcagcctggtggcagcctgag actgtcttgtgctgcctctggcttcaccttcagccactatatcatgatgtgggtcagaca ggcccctggcaaaggcctggaatgggtgtcaggcatctacagcagtggtggcatcacagt gtatgctgactctgtgaagggcagattcaccatcagcagagacaacagcaagaacaccct gtacctgcagatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgcctatag aagaattggggtgcccagaagggatgagtttgacatctggggccagggcaccatggttac agtgtcctctgccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagag caccagtggtggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgt gactgtgtcctggaactctggggctctgacttctggggtgcacacctttccagctgtgct gcagtcctctggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctggg cacacagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagag agtggaacccaagagctgtgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaact gcttggaggcccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcag cagaacccctgaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaa gttcaattggtatgtggatggggttgaagtgcacaatgccaagaccaagcctagagagga acagtacaacagcacctacagagtggtttctgtgctgacagtgctgcaccaggactggct gaatggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaa aaccatctccaaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacaccctgccacctag cagagaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctaccc ctctgacattgctgtggaatgggagagcaatggccagcctgaaaacaactacaagacaac ccctcctgtgctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaa gtccagatggcagcagggaaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaa ccactacacccagaaaagtctgtctctgtcccctggcagaaagagaagaggctctggaga aggcagaggctccctgctgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtatag gatgcaactgctcctcctgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatcca gatgacacagagcccctccacactgtctgcatctgtgggagacagagtgaccatcacctg tagagccagccagtctatctctagctggctggcctggtatcagcaaaagcctggcaaggc ccctaagctgctgatctacaaggccagcacacttgagtcaggggtgccctccagattttc tggctctggatctggcacagagttcaccctgaccatcagctccctgcagccagatgactt tgccacctactactgccagcagtacaatacctactggacctttggccagggaacaaaggt ggaaatcaagagaacagtggctgccccatctgtgttcatcttcccaccatctgatgaaca gctgaagtctggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttttaccccagagaagc caaggtgcagtggaaagtggataatgccctgcagtctggcaatagccaagaatctgtgac agagcaggactccaaggattccacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggc tgactatgagaagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacacaccagggactgagcagccc agtgaccaagagcttcaacaggggagagtgctgataactcgaggacggggtgaactacgc ctgaggatccgatcttttccctctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttga gcatctgacttctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaattt

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	tttgtgtctctca
LTP1.LANv2.T2A (LTP1.L02) SEQ ID NO: 442	aggttaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctc tgtttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaa aaagcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgtttgctctggtt aataatctcaggagcacaaacattccagatccggcgcgccagggctggaagctacctttg acatcatttcctctgcgaatgcatgtataatttctacagaacctattagaaaggatcacc cagcctctgcttttgtacaactttcccttaaaaaactgccaattccactgctgtttggcc caatagtgagaacttttttcctgctgcctcttggtgcttttgcctatggcccctattctgc ctgctgaagacactcttgccagcatggacttaaacccctccagctctgacaatcctcttt ctcttttgttttacatgaagggtctggcagccaaagcaatcactcaaagttcaaaccttа tcatttttgctttgttcctcttggccttggttttgtacatcagctttgaaaataccatc ccagggttaatgctggggttaatttataactaagagtgctctagttttgcaatacaggac atgctataaaaatggaaagatgttgctttctgagaggatcttgctaccagtggaacagcc actaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctcccagagactgtc tgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtaca gtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggca gcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgata actggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccctctggatccac tgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacc tgggacagtcaggtaagtatcaaggttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactg ggcttgtcgagacagagaagactcttgcgtttctgataggcacctattggtcttactgac atccactttgcctttctctccacaggttgaattcgccgccaccatgtacagaatgcagct gctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattctgaggtccagctgcttga gagtggtggtggactggttcagcctggtggcagcctgagactgtcttgtgctgcctctgg cttcaccttcagccactatatcatgatgtgggtcagacaggcccctggcaaaggcctgga atgggtgtcaggcatctacagcagtggtggcatcacagtgtatgctgactctgtgaaggg cagattcaccatcagcagagacaacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaactccct gagagctgaggacacagcagtgtactactgtgcctatagaagaattggggtgcccagaag ggatgagtttgacatctggggccagggcaccatggttacagtgtcctctgccagcacaaa gggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagtggtggaacagctgc cctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgactgtgtcctggaactctgg ggctctgacttctggggtgcacacctttccagctgtgctgcagtcctctggcctgtactc tctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacacagacctacatctgcaa tgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtggaacccaagagctgtga caagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgcttggaggcccttctgtgtt cctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaaccccctgaagtgacctg tgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttcaattggtatgtggatgg ggttgaagtgcacaatgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaacagcacctacag agtggtttctgtgctgacagtgctgcaccaggactggctgaatggcaaagagtacaagtg caaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaaccatctccaaggccaaggg ccagccaagagaaccccaggtttacaccctgccacctagcagagaagagatgaccaagaa ccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctgacattgctgtggaatg ggagagcaatggccagcctgaaaacaactacaagacaaccccctcctgtgctggactctga tggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtccagatggcagcagggaaa tgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccactacacccagaaaagtct gtctctgtcccctggcagaaagagaagaggctctggagaaggcagaggctccctgctgac atgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatgcaactgctcctcctgat tgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatgacacagagcccctccac actgtctgcatctgtgggagacagagtgaccatcacctgtagagccagccagtctatctc tagctggctggcctggtatcagcaaaagcctggcaaggcccctaagctgctgatctacaa ggccagcacacttgagtcaggggtgccctccagattttctggctctggatctggcacaga gttcaccctgaccatcagctccctgcagccagatgactttgccacctactactgccagca gtacaatacctactggacctttggccagggaacaaaggtggaaatcaagagaacagtggc tgccccatctgtgttcatcttcccaccatctgatgaacagctgaagtctggcactgcctc tgttgtgtgcctgctgaacaacttttaccccagagaagccaaggtgcagtggaaagtgga taatgccctgcagtctggcaatagccaagaatctgtgacagagcaggactccaaggattc cacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgactatgagaagcacaaagt gtatgcctgtgaagtgacacaccagggactgagcagcccagtgaccaagagcttcaacag

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	gggagagtgctgataactcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatctttttcc ctctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaata aaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctca
LMTP6.LANv2.T2A (LMTP6.L02) SEQ ID NO: 443	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcaccctgccccctccaaccctcagttc ccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctc cctgcctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccatgccacc tccaacatccactcgacccccttggaatttcggtggagaggagcagaggttgtcctggcgt ggtttaggtagtgtgagagggccactacgggtttaggctgcccatgtaaggaggcaaggc ctggggacacccgagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccccc cccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtggatcccactacgggtttag gctgcccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataattaaccc agacatgtggctgccccccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccc tggtggatcccactacgggtttaggctgcccatgtaaggaggcaaggcctggggacaccc gagatgcctggttataattaacccagacatgtggctgccccccccccccccaacacctgc tgcctctaaaaataaccctgtccctggtggatcccctgcatgcgaagatcttcgaacaag gctgtgggggactgagggcaggctgtaacaggcttgggggccagggcttatacgtgcctg ggactcccaaagtattactgttccatgttcccggcgaagggccagctgtcccccgccagc tagactcagcacttagtttaggaaccagtgagcaagtcagcccttggggcagcccataca aggccatggggctgggcaagctgcacgcctgggtccggggtgggcacggtgcccgggcaa cgagctgaaagctcatctgctctcaggggcccctccctggggacagcccctcctggctag tcacaccctgtaggctcctctatataacccaggggcacaggggctgccctcattctacca ccacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcgagatcttgctaccag tggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggtactctccc agagactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctga gccaggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaagctgtacactgcccaggcaaag cgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgc tcctccgataactggggtgaccttggttaatattcaccagcagcctcccccgttgcccct ctggatccactgcttaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcacc accactgacctgggacagtcaggtaagtatcaaggttacaagacaggtttaaggagacca atagaaactgggcttgtcgagacagagaagactcttgcgtttctgataggcacctattgg tcttactgacatccactttgcctttctctccacaggttcgaattcgccgccaccatgtac agaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattctgaggtc cagctgcttgagagtggtggtggactggttcagcctggtggcagcctgagactgtcttgt gctgcctctggcttcaccttcagccactatatcatgatgtgggtcagacaggcccctggc aaaggcctggaatgggtgtcaggcatctacagcagtggtggcatcacagtgtatgctgac tctgtgaagggcagattcaccatcagcagagacaacagcaagaacaccctgtacctgcag atgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgcctatagaagaattggg gtgcccagaagggatgagtttgacatctggggccagggcaccatggttacagtgtcctct gccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagtggt ggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgactgtgtcc tggaactctggggctctgacttctggggtgcacacctttccagctgtgctgcagtcctct ggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacacagacc tacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtggaaccc aagagctgtgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgcttggaggc ccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaacccct gaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttcaattgg tatgtggatggggttgaagtgcacaatgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaac agcacctacagagtggtttctgtgctgacagtgctgcaccaggactggctgaatggcaaa gagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaaccatctcc aaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacaccctgccacctagcagagaagag atgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctgacatt gctgtggaatgggagagcaatggccagcctgaaaacaactacaagacaacccctcctgtg ctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtccagatgg cagcagggaaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccactacacc cagaaaagtctgtctctgtcccctggcagaaagagaagaggctctggagaaggcagaggc tccctgctgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatgcaactg ctcctcctgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatgacacag

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	agcccctccacactgtctgcatctgtgggagacagagtgaccatcacctgtagagccagc cagtctatctctagctggctggcctggtatcagcaaaagcctggcaaggcccctaagctg ctgatctacaaggccagcacacttgagtcaggggtgccctccagattttctggctctgga tctggcacagagttcaccctgaccatcagctccctgcagccagatgactttgccacctac tactgccagcagtacaatacctactggacctttggccagggaacaaaggtggaaatcaag agaacagtggctgccccatctgtgttcatcttcccaccatctgatgaacagctgaagtct ggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttttaccccagagaagccaaggtgcag tggaaagtggataatgccctgcagtctggcaatagccaagaatctgtgacagagcaggac tccaaggattccacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgactatgag aagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacacaccagggactgagcagcccagtgaccaag agcttcaacaggggagagtgctgataactcgaggacggggtgaactacgcctgaggatcc gatctttttccctctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgact tctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctc tca

Клетки HEK293 высевали при плотности 7,5 × 10^5 клеток/лунку в каждую лунку стандартного 6-луночного планшета, содержащую модифицированную по способу Дульбекко среду Игла (DMEM), дополненную 10% фетальной телячьей сывороткой (FBS). На следующий день клетки трансфицировали конструкциями AAV CAG.L01 (SEQ ID NO: 435), CAG.L02 (SEQ ID NO: 437) и CAG.L03 (SEQ ID NO: 436) с использованием липофектамина 2000 (Invitrogen) согласно протоколу производителя). Нетрансфицированные клетки использовали в качестве отрицательного контроля. Среду для культивирования клеток меняли через 24 часа после трансфекции на среду Opti-Mem I с пониженным содержанием сыворотки (2 мл/лунку). Супернатант клеточной культуры собирали через 48 часов после трансфекции, и клеточные лизаты собирали с помощью буфера RIPA (Pierce), дополненного таблетками ингибитора протеазы, не содержащими EDTA (Pierce). Образцы супернатанта и лизатов хранили при -80 °C.

Белки из образцов супернатанта или клеточных лизатов разделяли посредством системы электрофореза NuPAGE (Thermo Fisher Scientific). Для образцов, выделенных из клеточных лизатов, загружали 40 мкг белка, если не указано иное. Очищенный человеческий IgG или IgG ланаделумаба (производимый Genscript) использовали в качестве контроля загрузки (50-100 нг). Образцы нагревали с буфером для образцов LDS и восстанавливающим агентом NuPAGE при 70 °C в течение 10 минут, а затем загружали на гели для разделения белков NuPAGE 4-12% Bis-Tris. Разделенные белки переносили на PVDF-мембраны с использованием системы для сухого блоттинга iBlot2 в соответствии с инструкциями производителя (для переноса белка использовали настройку по умолчанию P3). Мембраны немедленно промывали фосфатным

буферным солевым раствором с 0,1% об./об. Tween-20 (PBST). Затем мембраны инкубировали в блокирующем растворе, содержащем PBST и 1% блокирующий буфер Clear Milk Blocking Buffer (Thermo Scientific), в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем мембраны инкубировали в свежем блокирующем растворе с добавлением козьего антитела против человеческой каппа легкой цепи с HRP (Bethyl Laboratories; разведение 1:2000) и козьего антитела против человеческого IgG Fc-HRP (разведение 1:2000). После инкубации антител мембраны трижды промывали в PBST по 5 минут на каждую промывку. Наконец, мембраны инкубировали в хемилюминесцентном субстрате SuperSignal West Pico PLUS в течение 5 минут и визуализировали на системе Gel Doc BioRad Universal Hood II для обнаружения сигнала пероксидазы хрена (HRP).

Результаты

Анализ экспрессии репортерного трансгена (eGFP) после трансфекции различных количеств плазмиды (4 мкг-нетрансфицированных) показал дозозависимое увеличение уровней eGFP (фиг. 24B). Анализ белковой экспрессии ланаделумаба в клеточном лизате (фиг. 24C) и в клеточном супернатанте (фиг. 24D) показал дозозависимые уровни ланаделумаба в клеточных лизатах и супернатанте. Трансфекция конструкцией, содержащей трансген L02 (SEQ ID NO: 286, CAG.L02 (SEQ ID NO: 437)), кодон-оптимизированная и лишенная динуклеотидных последовательностей CpG конструкция привела к более высоким уровням экспрессии по сравнению с трансгеном L01 (SEQ ID NO: 141, CAG.L01 SEQ ID NO: 435). Трансфекция CAG.L02 (SEQ ID NO: 437) и CAG.L03 (SEQ ID NO: 436) привела к сходным уровням экспрессии.

6.51 ПРИМЕР 51: Экспрессия ланаделумаба в сыворотке у мышей

Способы

A. Эксперименты на мышах проводили с использованием AAV8 или AAV9, содержащих конструкцию AAV (как изображено на фиг. 24A), содержащую последовательность L01 (SEQ ID NO: 141), которая содержит последовательность фурина и F2A (SEQ ID NO: 231). Векторы AAV8 и AAV9 (n = 5 мышей на группу; 2 x 10^{11} копий генома (gc)) вводили мышам NSG с ослабленным иммунитетом либо внутривенным (IV), либо внутримышечным (IM) путем. IV введения осуществляли в хвостовую вену, а IM введения были билатеральными в икроножные мышцы. Мышей, которым вводили носитель, включали в качестве контролей. Через семь недель после

введения мышей умерщвляли и определяли уровни человеческих антител в сыворотке с помощью иммуноферментного анализа (ELISA).

Уровни ланаделумаба в сыворотке мышей NSG оценивали с помощью ELISA. Вкратце, мышиную сыворотку получали до обработки и через 1, 3, 5 и 7 недель после трансфекции гена *in vivo* и хранили при -80 °C. 96-луночный планшет покрывали 1 мкг/мл человеческого IgG-Fc фрагмента антитела (Bethyl, Montgomery, TX) в карбонатно-бикарбонатном буфере (0,05 M, pH 9,6, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) и инкубировали в течение ночи при 4 °C. После промывания промывочным буфером Tween 20 (PBST, 0,05%, Alfa Aesar, Haverhill, MA) планшет инкубировали с блокирующим буфером (3% BSA в PBS, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) в течение 1 ч при 37 °C, а затем промывали. Образцы мышиной сыворотки, разведенные в буфере для разведения образцов (0,1% Tween 20 и 3% BSA в PBS), вносили в планшет (50 мкл/лунку) и инкубировали в течение 2 ч при 37 °C. Стандартная кривая известных концентраций ланаделумаба в диапазоне от 360 до 0,001 нг/мл была включена в каждый планшет. Планшет промывали PBST пять раз после инкубации. Уровни ланаделумаба определяли путем инкубирования с конъюгированным с пероксидазой хрена козьим антителом против человеческого IgG (H + L) (200 нг/мл; Bethyl, Montgomery, TX) в течение 1 ч при 37 °C. Оптическую плотность оценивали с использованием системы KPL TMB Microwell Peroxidase Substrate System (Seracare, Milford, MA) в соответствии с техническими условиями производителя. Анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения SoftMax Pro версии 7.0.2 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA).

Результаты

A. Результаты репрезентативного эксперимента показаны на фиг. 25. Анализ сыворотки AAV8-, AAV9-инъецированных и контрольных (носитель) мышей NSG через 7 недель после переноса гена показал экспрессию и накопление в сыворотке ланаделумаба после доставки AAV9 (2 x 10^{11} копий генома). Концентрация ланаделумаба в сыворотке была в 100 раз выше у AAV9-инъецированных мышей по сравнению с AAV8-инъецированными мышами, и немного выше у IV-AAV9-инъецированных мышей по сравнению с IM-AAV9-инъецированными мышами. Уровни человеческих антител в сыворотке у контрольных мышей не определялись через 7 недель.

B. В аналогичном эксперименте оценивали изменение во времени уровней ланаделумаба в сыворотке у мышей NSG после введения AAV9 (n = 5 на группу).

Векторы AAV9 (2 x 10^{11} копий генома) вводили IV или IM (как указано выше в эксперименте A), и уровни антител в сыворотке определяли с помощью ELISA на 7-й день (D7), 21-й день (D21), 35-й день (D35) и 49-й день (D49).

Экспрессия ланаделумаба в сыворотке обнаруживалась уже через 1 неделю (D7) после введения AAV9 мышам NSG. Уровни экспрессии увеличились через 3 недели (D2), достигли пика через 5 недель (D35) и затем поддерживались до 7 недель после инъекции (D49). Было замечено, что концентрация ланаделумаба в сыворотке выше у мышей, инъецированных IV, по сравнению с мышами, инъецированными IM, в течение всего периода времени. См. **фиг. 26**.

C. В аналогичном эксперименте оценивали изменение во времени уровней ланаделумаба в сыворотке у мышей C/57BL6 после введения AAV8. Оптимизированная экспрессионная кассета, содержащая специфический для печени промотор, и кодон-оптимизированный и CpG-деплетированный трансген, с модифицированным сигналом процессинга фурина-2A, привела к устойчивой концентрации антител в сыворотке при внутривенной доставке с использованием вектора AAV8. Очень высокие (>1 мг/мл) и устойчивые уровни функциональных антител против калликреина были достигнуты в сыворотке мышей C57BL/6 после IV введения вектора в дозе 1 x 10^{13} копий генома/кг.

6.52 ПРИМЕР 52: Анализ трансдукции *in vitro* и экспрессии тандемных печеночно- и тандемных печеночно-/мышечно-специфических промоторов, управляющих экспрессией ланаделумаба

Цис-плазмиды, экспрессирующие векторный ланаделумаб, упаковывали в AAV, затем частицы rAAV оценивали на эффективность трансдукции AAV. Каждая цис-плазмида содержала легкую цепь и тяжелую цепь антитела ланаделумаба (Mab1), которые представляют собой мультицистроны, управляемые промотором CAG, ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412) или LMTP6 (SEQ ID NO: 320). Гены полноразмерной тяжелой цепи антитела и легкой цепи антитела ланаделумаба разделяли линкером фурин 2A, чтобы гарантировать раздельную экспрессию каждой цепи антитела. Вся кассета фланкирована ITR AAV2, и геном инкапсидирован в капсид AAV8 для доставки в клетки C2C12 (1 x 10^{10} на лунку). Для обнаружения белка антитела после трансдукции клетки обрабатывали FITC-конъюгированным анти-Fc (IgG) антителом. Инфицированные AAV8.CAG.Mab1 и AAV8.LMTP6.Mab1 клетки показали высокую экспрессию в мышечных клетках, тогда как инфицирование с помощью AAV8.hAAT.Mab1 не привело к экспрессии антитела в мышечных клетках (**фиг. 27**).

Клетки оказались одинаково конфлюэнтными и жизнеспособными во всех тестируемых лунках, что видно по окрашиванию DAPI (ДНК) (**фиг. 27**).

6.53 ПРИМЕР 53: Экспрессия антител и биораспределение векторов у мышей, обработанных векторами AAV8-ланаделумаб, управляемыми различными промоторами

Промоторы тироксинсвязывающего глобулина (TBG) и альфа-1-антитрипсина (hAAT) широко использовались в качестве специфических для печени промоторов в предыдущих доклинических и клинических исследованиях генной терапии. Создавали панель сконструированных кассет промоторов, полученных из множества промоторов и энхансеров, и тестировали in vitro путем трансфекции клеток Huh7, линии клеток печени человека. Были отобраны промоторы-кандидаты, которые включали ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412), LSPX1 (SEQ ID NO: 315), LSPX2 (SEQ ID NO: 316), LTP1 (SEQ ID NO: 317) и LMTP6 (SEQ ID NO: 320). Затем создавали векторы AAV8, кодирующие векторный ланаделумаб, регулируемый этими промоторами-кандидатами. Промоторы CAG (SEQ ID NO: 411) и TBG (SEQ ID NO: 423), соответственно, служили в качестве контролей для универсальных и специфических для печени промоторов. Активность этих промоторов и биораспределение вектора тестировали *in vivo* путем измерения белковой экспрессии ланаделумаба по сравнению с копией векторного генома у каждой мыши дикого типа.

Векторы вводили внутривенно мышам C57B1/6 в эквивалентных дозах ($2,5 \times 10^{12}$ гв/кг). Мышиную сыворотку собирали раз в две недели и определяли уровни белковой экспрессии ланаделумаба с помощью ELISA. Образцы печени собирали через 49 дней после введения вектора. Присутствие вирусных геномов в каждом образце количественно определяли с использованием зонда и праймера ланаделумаба с помощью Droplet Digital PCR (ddPCR) (система NAICA™ от Stilla). Число копий генома глюкагона также измеряли одновременно в каждом образце, вирусные геномы затем нормализовали и представляли как число копий генома вектора на клетку (предполагая 2 глюкагона на клетку). Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа в GraphPad Prism 8.

Среди векторов AAV8 со специфическими для печени промоторами, векторы под управлением промоторов ApoE.hAAT (SEQ ID NO: 412) и LMTP6 (SEQ ID NO: 320), обеспечили самую высокую величину экспрессии белка во все моменты времени (**фиг. 28A**). В то время как для данных биораспределения не было существенной

разницы в количестве копий генома вектора на клетку в образцах печени у животных, обработанных векторами, управляемыми разными промоторами (**фиг. 28B**).

Все специфические для печени промоторы превосходят промотор TBG (SEQ ID NO: 423), и промотор LMTP6 с двойной специфичностью (SEQ ID NO: 320) стабильно показывает самую высокую экспрессию в сыворотке (мкг/мл) (**фиг. 28**).

6.54 ПРИМЕР 54: Экспрессия ланаделумаба в сыворотке крыс после введения векторного антитела

Высокий уровень экспрессии ланаделумаба был обнаружен в сыворотке мышей, получавших AAV-ланаделумаб внутривенно. В некоторых частях исследования изучали уровни экспрессии ланаделумаба в различных линиях крыс, получавших разные дозы векторов AAV-ланаделумаба, и в контролях.

Эксперимент 1 (крысы Wistar):

Для оценки пути и дозы введения вектора крысам контрольный вектор AAV.CAG-LANv2.T2A (CAG.L02; SEQ ID NO: 437) тестировали на крысах Wistar. Самцов крыс Wistar в возрасте восьми-десяти недель разделяли на три группы (n = 3 в каждой группе) и вводили вектор посредством внутримышечной или внутривенной инъекции в дозе 1×10^{13} гв/кг или 1×10^{14} гв/кг. Кровь собирали за 7 дней до введения и через 7, 10, 14, 17, 21, 28, 35, 42 и 49 дней после введения вектора, и обрабатывали в сыворотку.

Таблица 9. Подробное описание исследования экспрессии ланаделумаба в сыворотке крови крыс, *Эксперимент 1*.

Группа крыс	Самцы 8-10 недель Крысы Wistar (180-200 г)			Взятие образцов крови – День взятия (X)										
	Обработка	N	ROA	День -7	День 0	День 7	День 10	День 14	День 17	День 21	День 28	День 35	День 42	День 49
1	AAV8.CAG.LANv2.T2A Доза: 1 x 10^{13} гв/кг	3	IM	X	Введение	X	X	X	X	X	X	X	X	Умерщв
2	AAV8.CAG.LANv2.T2A Доза: 1 x 10^{13} гв/кг	3	IV	X	Введение	X	X	X	X	X	X	X	X	Умерщв.
3	AAV8.CAG.LANv2.T2A Доза: 1 x 10^{14} гв/кг	3	IV	X	Введение	X	X	X	X	X	X	X	X	Умерщв.

Уровни антитела IgG человека в собранной сыворотке крыс определяли с помощью ELISA. Статистический анализ проводили с помощью одностороннего

ANOVA с множественными сравнениями в каждый момент времени с использованием Prism.

Таблица 10. Результаты экспрессии ланаделумаба у крыс Wistar, *Эксперимент 1*

День взятия образцов	AAV8.CAG.Lanv2.T2A $1x10^{13}$ гв/кг- IM			AAV8.CAG.Lanv2.T2A $1x\ 10^{13}$ гв/кг- IV			AAV8.CAG.Lanv2.T2A $1x\ 10^{14}$ гв/кг- IM		
	Среднее	SEM	N	Среднее	SEM	N	Среднее	SEM	N
D7	4,1	0,96	3	8,43	0,64	3	33,6	13,86	3
D10	7,67	1,91	3	12,3	0,81	3	64,5	30,2	3
D14	9,37	0,73	3	23,13	0,18	3	123,23	69,12	3
D17	4,97	2,23	3	92	53,52	3	245,17	151,09	3
D21	2,04	0,9	3	33,06	5,84	3	252,63	149,41	3
D28	92,08	87,07	3	65,23	41,69	3	117,97	112,47	3
D35	14,46	12,31	3	88,1	56,68	3	122,97	74,94	3
D42	82,29	80,46	3	40,43	26,77	3	108,02	99,26	3
D49	1,66	0,95	3	81,4	39,96	3	216,30	118,18	3

Уровни антител в сыворотке крови крыс определяли через 7 дней после введения. Он увеличивался с течением времени и достигал пикового уровня через 17 (более низкая доза) дней и 21 (более высокая доза) день после введения в группах IV, и 28 дней в группе IM. Уровень антител постепенно снижался и держался до 48 дней после введения во всех группах. Для животных, которым вводили вектор с более низкой дозой (1×10^{13} гв/кг), уровни экспрессии антител в группах IV были значительно выше, чем в группе IM через 7, 14 и 21 день после введения вектора. Для животных, получавших IV введение, уровни экспрессии антител были дозозависимыми во все моменты времени. Максимальный уровень экспрессии ланаделумаба составил 252,6 ± 149,4 мкг/мл, который был обнаружен у животных, получавших более высокую дозу (1×10^{14} гв/кг) через 21 день после внутривенного введения. См. **фиг. 30A**.

Эксперимент 2 (крысы Wistar и Sprague-Dcrwley):

Целью этого эксперимента являлось исследование линии крыс и дозы вектора, которая будет использована для исследования эффективности на крысах. Самцов крыс Wistar и Sprague-Dawley (SD) в возрасте восьми-десяти недель разделяли на четыре группы (n = 3 на группу) для получения лечения с помощью вектора AAV8, несущего геном, кодирующий ланаделумаб, управляемый универсальным промотором CAG.L02 (SEQ ID NO: 437), или специфическим для печени промотором, ApoE.hAAT.L02 (SEQ ID NO: 439). Векторы вводили внутривенно в дозе 5×10^{13} гв/кг. Кровь собирали за 7 дней до лечения и через 7, 10, 14, 17, 21, 28, 35, 42 и 49 дней после введения вектора и обрабатывали в сыворотку (**таблица 11**). Уровни человеческого IgG-антитела в

собранной сыворотке крыс определяли с помощью ELISA. Статистический анализ выполняли с помощью однофакторного ANOVA с множественными сравнениями в каждый момент времени с использованием Prism.

Таблица 11. Подробное описание исследования экспрессии ланаделумаба в сыворотке крови крыс, *Эксперимент 2*.

Группа крыс	Самцы 8-10 недель Крысы Wistar или Sparague (SD) (180-200 г)			Взятие образцов крови – День взятия (X)									
	Обработка Доза: $5x10^{13}$ гв/кг	N	ROA	День -1	День 0	День 7	День 14	День 17	День 21	День 28	День 35	День 42	День 49
1	CAG.L02 Wistar	3	IM	X	Введение	X	X	X	X	X	X	X	Умерщв
2	ApoE.hAAT.L02 Wistar	3	IV	X	Введение	X	X	X	X	X	X	X	Умерщв.
3	CAG.L02 Sprague Dawley (SD)	3	IV	X	Введение	X	X	X	X	X	X	X	Умерщв.
4	ApoE.hAAT.L02 Sprague Dawley (SD)	3	IV	X	Введение	X	X	X	X	X	X	X	Умерщв.

В этом эксперименте контрольный вектор (CAG.L02, SEQ ID NO: 437) и вектор ApoE.hAAT.L02 (SEQ ID NO: 439) тестировали на крысах Wistar и SD, соответственно. Уровни экспрессии ланаделумаба были выше у крыс Wistar, чем у крыс SD в обеих группах векторов во все моменты времени. В ранние моменты времени животные, обработанные контрольным вектором, показали значительно более высокие уровни антител в сыворотке, чем животные, обработанные вектором, содержащим специфический для печени промотор. Это наблюдалось у крыс Wistar через 7 дней после обработки и у крыс SD через 7, 14 и 17 дней после обработки. У крыс Wistar концентрации антител постепенно увеличивались с течением времени в обеих группах векторов. Самые высокие уровни антител составили 173,1 ± 78,8 мкг/мл и 109,57 ± 18,9 мкг/мл через 35 и 49 дней, соответственно, у животных, обработанных контрольным вектором CAG-ланаделумаб и вектором hAAT-ланаделумаб. Однако у крыс SD уровни антител достигали пиков на 14 и 21 день у животных, обработанных контрольным и ведущим вектором, соответственно, и постепенно снижались впоследствии в обеих группах. Наивысшие концентрации антител составили 48,23 ± 3,1 мкг/мл и 22,33 ± 8,98 мкг/мл в группах векторов CAG.L02 (SEQ ID NO: 437) и ApoE.hAAT.L02 (SEQ ID NO: 439), соответственно. См. **таблицу 12** и **фиг. 30B**.

Таблица 12. Результаты экспрессии ланаделумаба у крыс Wistar, *Эксперимент 2*:

День взятия образцов	CAG-Wistar $5x10^{13}$ гв/кг- IV			ApoE.hAAT- Wistar $5x10^{13}$ гв/кг- IV		
	Среднее	SEM	N	Среднее	SEM	N
D7	25,04	5,26	3	5,80	0,61	3
D14	91,50	39,90	3	29,73	6,36	3
D17	111,30	51,29	3	55,10	18,60	3
D21	132,03	58,76	3	75,80	17,94	3
D28	159,90	69,08	3	74,27	21,84	3
D35	173,10	78,76	3	97,67	33,89	3
D42	173,00	57,73	3	83,10	27,67	3
D49	163,57	39,45	3	109,57	18,87	3

6.55 ПРИМЕР 55: Характеристика векторного ланаделумаба, регулируемого тканеспецифическими промоторами, после внутримышечного введения

В предыдущем исследовании была идентифицирована высокая управляемая печенью экспрессия векторного ланаделумаба с AAV8, регулируемым промоторами ApoE.hAAT или LMTP6. Цель этого исследования состояла в том, чтобы охарактеризовать управляемую мышцами экспрессию промотора LMTP6 после прямой инъекции векторов ланаделумаба в икроножную мышцу (GA). Животные получали билатеральные инъекции $5x10^{10}$ гв в мышцу GA. Сыворотку собирали каждые две недели для измерения системной концентрации ланаделумаба (**фиг. 31A**). Образцы от животных собирали через 49 дней после инъекции, и соответствующие ткани (печень, мышца GA, сердце) анализировали на биораспределение вектора и экспрессию трансгена.

Векторы, регулируемые промоторами hAAT и LMTP6, продемонстрировали значительно увеличенную концентрацию антител в сыворотке по сравнению с CAG во все моменты времени (**фиг. 31A**). В этом эксперименте hAAT и LMTP6 существенно не отличались друг от друга. Копии векторного генома на клетку векторного ланаделумаба были обнаружены и количественно определены в GA, печени и сердце (**фиг. 31B**) с заметным различием, состоящим в более высоком количестве генома, обнаруженном в сердце, для двойного мышечно/печеночного промотора, вектора LMTP6. Повышенная экспрессия РНК печени была также обнаружена для всех тестируемых векторов, непосредственно инъецированных в мышцу GA, на 49 день (относительная кратная экспрессии гена по сравнению с контрольным геном) (**фиг. 31C**). Данные по экспрессии генов (мРНК мкг/мл) из каждого из печени, GA-мышцы и

сердца (**фиг. 31D**) указывают на двойную специфичность LMPT6 в печени и мышечных тканях после внутримышечного введения, тогда как образцы под управлением hAAT показали снижение в мышцах по сравнению с LMTP6 и CAG. Значительные различия наблюдались также между группами hAAT и LMTP6.

6.56 ПРИМЕР 56: Сравнение белковых уровней ланаделумаба в мышиной сыворотке, полученной от мышей, обработанных векторами AAV-ланаделумаб, полученными с помощью различных систем продуцирования

Различные протоколы продуцирования AAV разработаны для идентификации способов, которые могут увеличить титр и масштабируемость AAV, а также для оценки качества векторного продукта. Цис- и транс-плазмиды для создания rAAV векторов AAV8.ланаделумаб (все имеющие один и тот же трансген, управляемый промотором CAG) конструировали с помощью хорошо известных способов, подходящих для способов продуцирования HEK293-трансфицированных клеток, а также клеток насекомых Sf9, инфицированных бакуловирусом (BV). Были обеспечены три различные BV/Sf9 векторные системы, BV1, BV2 и BV3, а также вектор rAAV, полученный методом HEK293, в качестве контроля. Очищенный продукт rAAV вводили мышам дикого типа для этого исследования белковой экспрессии (**таблица 13**).

Молодым взрослым мышам C57BL/6 (в возрасте 8-10 недель) вводили вышеупомянутые векторы в дозе $2,5E^{12}$ гв/кг посредством инъекции в хвостовую вену (n = 5 на группу). Сыворотку собирали у каждого животного через 7, 21, 35 и 49 дней после введения вектора. Сыворотка, собранная за два дня до инъекции (день 0), служила исходным контролем. Уровни экспрессии антител (ланаделумаба) детектировали с помощью ELISA. Анализ данных проводили с помощью одностороннего ANOVA с множественными сравнениями в каждый момент времени с использованием Prism.

Таблица 13. Дизайн исследования экспрессии системы продукции

Группа мышей	AAV8.Ланаделумаб $5x10^{10}$ гв ($2,5x10^{12}$ гв/кг)			Взятие образцов крови (X)						
	rAAV Способ продукции	N	ROA	День -2	День 0 (Неделя 0)	День 7 (Неделя 1)	День 21 (Неделя 3)	День 35 (Неделя 5)	День 49 (Неделя 7)	День 50
1	Клетки HEK	5	IV	X	Инъекция	X	X	X	X	Сыворотка
2	BV1	5	IV	X	Инъекция	X	X	X	X	Сыворотка
Werum 3	BV2	5	IV	X	Инъекция	X	X	X	X	Сыворотка
4	BV3	5	IV	X	Инъекция	X	X	X	X	Сыворотка

Все тестированные способы продуцирования являются жизнеспособными по данным этого исследования с более высокими выходами в способе продуцирования на основе клеток HEK в тестируемых моментах времени (см. **фиг. 32**). Экспрессия антител в сыворотке обнаруживается уже через 7 дней после введения во всех группах. Средняя концентрация антител на 7-й день в группе продуцирования HEK составила 386 мкг/мл, что значительно выше, чем в других группах (61-102 мкг/мл). Уровни экспрессии антител увеличиваются на 21 день в 1, 6, 7 и 4 раза в группах BV1, BV2 и BV3, соответственно. Уровни экспрессии антител сохранялись через 35 и 49 дней после введения. Существенное различие не наблюдалось между вектором, продуцируемым HEK, и векторами, продуцируемыми BV3, на дни 21, 35 и 49 отсутствует.

6.57 ПРИМЕР 57: Векторное человеческое анти-pKal антитело, ланаделумаб, полученное из подавленной мышиной сывороткой функции pKal человека

Для измерения функции pKal ланаделумаба, полученного из мышиной сыворотки, после введения AAV-ланаделумаба был разработан кинетический ферментативный функциональный анализ, основанный на флуоресценции. Сначала активированный калликреин плазмы человека (Enzyme Research Laboratories) разбавляли в буфере для разведения образцов (SDB; IX PBS, 3% BSA, 0,1% Tween-20)

до максимальной концентрации 100 нМ. Этот pKal разводили путем двухкратных серийных разведений до в общей сложности 12 концентраций в сериях разведений (100 нМ-0,05 нМ). Из каждого разведения и в двух повторностях 25 мкл вносили в одну лунку 96-луночного непрозрачного планшета с плоским дном вместе с 25 мкл SDB. Затем в каждую лунку вносили 50 мкл флуорогенного субстрата Pro-Phe-Arg-7-амино-4-метилкумарин (PFR-AMC) (Bachem), изготовленного при концентрации 100 мкМ в аналитическом буфере (50 мМ Трис, 250 мМ NaCl, pH 7,5). Образцы сразу же обрабатывали в кинетическом режиме для флуоресценции AMC при длинах волн возбуждения/испускания 380/460 нм, соответственно, в течение 3 часов с использованием флуоресцентного ридера для планшетов SpectraMax 3.

Отношение сигнал/шум для каждого значения RFU концентрации pKal (последнее выбранное значение флуоресценции RFU) вычисляли путем деления его RFU на фоновую флуоресценцию субстрата PFR-AMC. Затем выбирали две самые низкие концентрации pKal с отношением сигнал/шум > 2 (6,25 нМ и 12,5 нМ) для оценки подавляющего эффекта и диапазона действия антитела ланаделумаба в отношении функции pKal в ответной реакции на дозу ланаделумаба. Ланаделумаб (GenScript) или контрольное антитело IgG человека разводили в SDB до максимальной концентрации 200 нМ и серийно разводили в два раза до 0,39 нМ. Затем 25 мкл pKal (каждой из двух выбранных концентраций) инкубировали с 25 мкл ланаделумаба или человеческого IgG при 30 °C в течение 1 часа. Затем смеси антитело-pKal вводили PFR-AMC и немедленно запускали в кинетическом режиме для флуоресценции AMC при длинах волн возбуждения/испускания 380/460 нм, соответственно, в течение 3 часов с использованием флуоресцентного ридера для планшетов SpectraMax.

Функциональный анализ pKal in vitro. При использовании мышиную сыворотку разбавляли в буфере для разведения образцов и инкубировали 1:1 с 6,25 нМ (1,56 нМ в лунке) pKal при 30 °C в течение 1 часа. Для очистки общего IgG из сыворотки мыши антитело очищали с использованием набора Protein A Spin Antibody Purification Kit (BioVision) в соответствии с протоколом производителя. Общую концентрацию антител измеряли с помощью спектрофотометра Nanodrop с оптической плотностью OD = 280 нМ. Стандартную кривую AMC строили с помощью серии двукратных нисходящих разведений AMC (500 нМ, одиннадцать разведений и вычитание холостого опыта), приготовленных в аналитическом буфере. AMC считали флуоресценцией конечной точки при длинах волн возбуждения/испускания 380/460 нм, соответственно. Удельную активность калликреина в плазме рассчитывали как:

(скорректированный экспериментальный образец Vmax, RFU/сек) x (коэффициент преобразования, стандартная кривая AMC мкМ/RFU) / (концентрация pKal, нМ). Процентное снижение активности pKal получали из расчета активности pKal на 49-й день и день -7.

Для определения, может ли ланаделумаб, происходящий из AAV, подавлять функцию плазменного калликреина, был разработан функциональный анализ *in vitro* на основе субстрата AMC для экспериментального подтверждения концепции (**фиг. 33A** и **33B**). В этом анализе, содержащую антитело среду инкубировали с активированным человеческим pKal, как описано выше. Затем к связанному с антителом pKal добавляли синтетический пептидный субстрат Pro-Phe-Arg, конъюгированный с AMC (PFR-AMC), и количество высвобожденного AMC измеряли с течением времени при длинах волн возбуждения/испускания 380/460 нм, соответственно, в течение 3 часов. Анализ показал заметное опосредованное ланаделумабом подавление активности pKal до 0,1 нМ (концентрация в лунках) (**фиг. 33C**) при определенной концентрации фермента. Сначала определяли, может ли сыворотка от мышей, которым вводили AAV, кодируемый ланаделумабом, подавлять активность pKal. Сыворотку от мышей через 49 дней после введения разводили 1:25 (в диапазоне, который, как предполагается, является супрессивным), инкубировали с pKal *in vitro* и анализировали активность pKal. Сыворотка от мышей после введения вектора, в отличие от 7 дней до введения, подавляла активность pKal, что отражалось в значительном снижении активности фермента и снижении активности pKal на 50% между двумя временными точками (**фиг. 33D и 33E**)

Дальнейшие эксперименты показали, что подавление было обусловлено ланаделумабом в сыворотке. Поскольку человеческий IgG, а именно ланаделумаб, можно было обнаружить только на 49-й день после введения фракции IgG, но не в образцах перед введением на -7-й день, использовали очищенное и общее антитело IgG из образцов сыворотки, полученных от вышеупомянутых мышей на -7-день и 49-й день, для тестирования подавления pKal. Действительно, только содержащий ланаделумаб очищенный IgG из сыворотки, полученной на 49-й день после введения, но не IgG из сыворотки, полученной в момент времени до введения, подавлял функцию pKal человека (**фиг. 33F**).

6.58 ПРИМЕР 58: Эффекты AAV-ланаделумаба на животных моделях с использованием каррагинана

6.58.1 Пример 58A: Эффекты AAV-ланаделумаба на модели индуцированного каррагинаном отека лапы у мышей

Модели воспаления, индуцированные каррагинаном, часто используют в качестве моделей острого воспаления. Каррагинан (Cg) является сильным химическим агентом, который стимулирует высвобождение воспалительных и провоспалительных медиаторов, включая брадикинин, гистамин, тахикинины, реактивный кислород и азот. Типичные признаки воспаления включают отек, гипералгезию и эритему, которые развиваются сразу после обработки каррагинаном. В этом примере оценивали эффект AAV-опосредованной доставки гена ланаделумаба на индуцированный каррагенаном отек лапы у мышей.

Всего для этого исследования использовали восемьдесят молодых взрослых (8-9 недель) мышей-самцов C57BL/6. Животные были разделены на восемь групп, как указано в таблице 14. Отек лапы вызывали однократной подкожной (s.c.) инъекцией 30 мкл 0,7% или 1% раствора каррагинана. Тестируемые векторы и положительный контроль диклофенак вводили за 21 день и 30 минут до обработки каррагинаном. Кровь собирали перед инъекцией векторов и через 7 и 21 день после инъекции у мышей в группах 1, 3, 4, 5, 7 и 8. Объем лапы измеряли с помощью цифрового плетизмометра перед инъекцией каррагинана и через 2, 4, 6, 8, 24 и 48 часов после инъекции. Всех животных умерщвляли через 48 часов после инъекции каррагинана. При вскрытии также брали также образцы тканей печени и лап.

Таблица 14. Дизайн исследования на мышах с отеком лап, индуцированным каррагинаном (Cg)

*Гр.	Группа/обработка	Уровень дозы тестируемых соединений	Способ введения, объем дозы	Время до обработки	N
1	Cg (0,7%) / Носитель диклофенака	0	I.P., 10 мл/кг	30 мин до Cg	10
2	Cg (0,7%) /Диклофенак	60 мг/кг	I.P., 10 мл/кг	30 мин до Cg	10
3	Cg (0,7%) / Вектор 1	$1x10^{13}$ гв/кг	I.V., 3,333 мл/кг	3 недель до Cg	10
4	Cg (0,7%) / AAV8.ApoE.hAAT.Lan	$1x10^{13}$ гв/кг	I.V., 3,333 мл/кг	3 недели до Cg	10
5	Cg (1,0%)/ Носитель диклофенака	0	I.P., 10 мл/кг	30 мин до Cg	10
6	Cg (1,0%)/ Диклофенак	60 мг/кг	I.P., 10 мл/кг	30 мин до Cg	10
7	Cg (1,0%)/ Вектор 1	$1x10^{13}$ гв/кг	I.V., 3,333 мл/кг	3 недели до Cg	10

8	Cg (1,0%)/ AAV8.ApoE.hAAT.Lan	$1x10^{13}$ гв/кг	I.V., 3,333 мл/кг	3 недели до Cg	10

Вектор 1: AAV8-GFP

Как 0,7%, так и 1,0% каррагинан вызывал опухание лапы после инъекции; однако опухание было более выраженным при инъекции 1,0% каррагинана (**фиг. 34, A-L**). В группах положительного контроля (группа 2 и 6) лечение диклофенаком значительно уменьшило объем лапы через 2, 4, 6, 8 и 24 часа после инъекции каррагинана в модели 1,0% Cg (группа 2), при этом значительное уменьшение объема лапы наблюдалось только через 4 и 24 часа после инъекции в модели 0,7% Cg (группа 6).

Обработка ApoE.hAAT.L02 (SEQ ID NO: 439) значительно снижала объем лапы через 2, 4, 6 и 8 часов после инъекции каррагинана в модели 1,0% Cg по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель (группа 1, буферный раствор для вектора) (**фиг. 35A** и **35B**). Однако эффекта от обработки ApoE.hAAT.L02 не наблюдалось в модели 0,7% Cg ни в какие моменты времени (**фиг. 35A** и **35B**). Значительное различие отсутствовало между группами, получавшими носитель (группы 1 и 4) или контрольный вектор (AAV-GFP, группы 3 и 7), как в моделях 1,0%, так и 0,7% Cg (**фиг. 33A-L**). Все данные анализировали с помощью одностороннего ANOVA с апостериорным критерием Даннета для множественных сравнений.

Эти данные показывают, что острое воспаление может быть успешно индуцировано в лапе мыши с помощью однократной подкожной инъекции 1% раствора каррагинана. Ланаделумаб, человеческое антитело IgG, продуцируемое в сыворотке мышей путем AAV-опосредованной доставки генов значительно снижает тяжесть воспаления в мышиной модели 1% каррагинана.

6.58.2 Пример 58B: Исследование эффективности AAV-ланаделумаба в отношении индуцированного каррагенаном отека лапы у крыс Wistar

Этот проект направлен на оценку эффективности терапии AAV-опосредованными антителами (ланаделумабом) в отношении индуцированного каррагинаном отека лапы у крыс Wistar. Всего в эксперименте использовали 50 крыс-самцов линии Wistar, разделенных на 5 групп (см. **таблицу 15**). Отек лапы индуцировали однократной подкожной (s.c.) инъекцией 100 мкл 1% раствора

каррагинана. Тестируемые препараты вводили в разные моменты времени (за 30 минут, 21 день, 24 часа или 1 час) до обработки каррагинаном.

Таблица 15. Распределение по группам и лечение в исследовании на крысах Wistar

Группа	N	Каррагинан	Лечение	R.O.A	Время дозирования	Конц.	Дозировка	
							мл/кг	мг/кг / гв/кг
1	10	Да	Носитель[a]	IV	30 мин до инъекции каррагинана	N/A	1,6	N/A
2	10	Да	ApoE.hAAT.L02	IV	21 день до инъекции каррагинана	$6,25 \times 10^{13}$ гв/мл	1,6	1×10^{14} гв/кг
3	10	Да	Контрольный AAV (нерелевантный трансген)	IV	21 день до инъекции каррагинана	$6,25 \times 10^{13}$ гв/мл	1,6	1×10^{14} гв/кг
4	10	Да	Ланаделумаб	SC	24 часа до инъекции каррагинана	4,81 мг/мл	6,237	30 мг/кг
5	10	Да	Дексаметазон[b]	PO	1 час до и 6 часов после инъекции каррагинана	1 мг/мл	10	10 мг/кг

a: Буфер для составления

b: физиологический раствор

Массу тела измеряли дважды в неделю. За 7 дней до введения векторов и через 7 и 14 дней после инъекции векторов у всех крыс собирали 0,3 мл крови с помощью ретроорбитального/поднижнечелюстного кровотечения, а затем обрабатывали в сыворотку. Объем лапы измеряли до инъекции каррагинана и через 2, 4, 6, 8, 24 часа после инъекции каррагинана. Всех животных умерщвляли через 24 часа после инъекции каррагинана. При аутопсии кровь для подготовки сыворотки брали путем внутрисердечной пункции. Затем три кусочка печени (приблизительно 50 мг на единицу) из одной и той же доли каждого животного собирали и замораживали в трех отдельных пробирках, соответственно. Правую лапу всех крыс резецировали, фиксировали формалином и заливали парафином (FFPE). См. **таблицу 16**.

Таблица 16. Режим измерения и взятия образцов для исследования крыс Wistar

	Взятие образ. крови	Обработка	Взятие образ. крови	Взятие образ. крови	Обработка	Обработка	Каррагинан	Измерение отека лап (ч после каррагинана)						Взятие образца и конец исслед.
Группа	День -7	День 0	День 7	День 14	День 20	День 21	День 21	0 ч	2 ч	4 ч	6 ч	8 ч	24 ч	День 22
1	√	x	√	√	x	Носитель	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	AAV8.Lan	√	√	x	x	√	√	√	√	√	√	√	√
3	√	Контрольный AAV	√	√	x	x	√	√	√	√	√	√	√	√

	Взятие образ. крови	Обработка	Взятие образ. крови	Взятие образ. крови	Обработка	Обработка	Каррагинан	Измерение отека лап (ч после каррагинана)						Взятие образца и конец исслед.
4	√	x	√	√	Антитело	x	√	√	√	√	√	√	√	√
5	√	x	√	√	x	Дексаметазон	√	√	√	√	√	√	√	√

Данные представлены в виде среднего значения ± SEM (стандартная ошибка среднего). Статистический анализ, включая t-критерий или ANOVA, выполняли с использованием программного обеспечения Graphpad, prism 6.0 с уровнем значимости альфа 0,05.

6.59 ПРИМЕР 59: Лечение диабетической ретинопатии с помощью AAV-опосредованного антитела против калликреина плазмы

Диабетическая ретинопатия (DR) и диабетический макулярный отек (DME) являются наиболее частыми осложнениями диабета и основными причинами слепоты среди взрослых трудоспособного возраста. Хроническая гипергликемия приводит к повреждению микрососудов сетчатки и способствует увеличению проницаемости микрососудов, усилению воспалительной реакции и накоплению жидкости в нейрональной сетчатке, что в конечном итоге приводит к потере зрения. Интравитреальное введение анти-VEGF препаратов является лечением первой линии при DME. Однако ответ DME на анти-VEGF препараты сильно варьируется. Только 54% пациентов с DME получали последовательное ежемесячное усиление зрения с помощью анти-VEGF препаратов (Elman MJ, Aiello LP, Beck RW, et al. Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. Ophthalmology 2010;117:1064–1077; Brown DM, Nguyen QD, Marcus DM, et al. Long-term outcomes of ranibizumab therapy for diabetic macular edema: The 36-month results from two phase III trials: RISE and RIDE. Ophthalmology 2013;120:2013–2022). Недавние исследования показали, что калликреин плазмы, медиатор сосудистой экссудации и воспаления, может играть важную роль в патогенезе DR и DME независимо от VEGF (Gao -B-B, Clermont A, Rook S, et al. Extracellular carbonic anhydrase mediates hemorrhagic retinal and cerebral vascular permeability through prekallikrein activation. Nature Medicine 2007;13:181; Clermont A, Chilcote TJ, Kita T, et al. Plasma kallikrein mediates retinal vascular dysfunction and induces retinal thickening in diabetic rats. Diabetes 2011;60:1590–1598; and Kita T, Clermont AC, Murugesan N, et al. Plasma kallikrein-kinin system as a VEGF-independent mediator of diabetic macular edema. Diabetes 2015;64:3588–3599). Ингибиторы плазменного калликреина могут быть потенциальными альтернативными терапиями для пациентов

с DR и DME, которые не реагируют на анти-VEGF терапию. Это исследование направлено на тестирование возможности терапии DR/DME с использованием доставки глазных векторных антител с помощью переноса гена на основе аденоассоциированного вируса (AAV).

Последовательность векторного антитела против калликреина плазмы (анти-pKal Ab, такого как ланаделумаб) конструировали и тестировали для ее применения в лечении наследственного ангионевротического отека (HAE), как описано выше. В этом исследовании AAV8.CAG.LAN Ab и AAV8.CAG.GFP использовали в качестве тестируемых векторов. В качестве контрольного вектора использовали AAV8.NUL.

Сначала оценивали эффективность трансдукции и специфичность типа клеток у крыс дикого типа. Для этого исследования использовали взрослых крыс Wistar (возраст 3-4 месяца). Векторы, включая AAV8.CAG.LAN Ab, AAV8.CAG.GFP и AAV8.NUL, доставляли в глаза крыс посредством субретинальной (SR) инъекции в различных дозах ($5x10^8$ гв/глаз и $5x10^9$ гв/глаз) в 3 мкл буфера для составления. Визуализацию глазного дна и OCT выполняли через 2, 4 и 8 недель после SR инъекции. Образцы ткани глаза брали через 8 недель после введения. Уровни экспрессии антител в отдельных тканях глаза, включая сетчатку и пигментный эпителий сетчатки (RPE), количественно определяли с помощью ELISA. Специфичность типа клеток определяли иммунофлуоресцентным окрашиванием различными маркерами клеток сетчатки.

Крысы линии Wistar с индуцированным стрептозотоцином (STZ) диабетом использовали в качестве животной модели для исследований эффективности. Диабет индуцировали путем внутривенной инъекции STZ в дозе 60 мг/кг массы тела молодым взрослым крысам Wistar (8-10 недель). Значительная и прогрессирующая потеря остроты зрения в этой модели, как правило, начиналась через 8 недель после индукции. Вектор AAV8.CAG.pKal Ab вводили субретинально через 4 или 8 недель после индукции диабета. В контралатеральный глаз вводили вектор AAV.NUL, который служил в качестве контроля. Исследование глазного дна, флюоресцентную ангиографию (FA) и OCT-визуализацию, электроретинографию (ERG) и оптокинетический нистагм (OKN) проводили через 8, 12 и 16 недель после индукции диабета. Глазные ткани или глазные яблоки целиком собирали через 16-17 недель после индукции диабета. Экспрессию антител в тканях глаза количественно определяли с помощью ELISA. Изменения структуры сетчатки и выживаемость нейронов оценивали с помощью гистологии и иммунофлуоресцентного окрашивания.

6.60 ПРИМЕР 60: Характеристика ограниченной тканью иммуногенности трансгена

Целью данного исследования является понимание индукции иммуногенности и/или толерантности трансгена в контексте универсальных, тканеспецифических или тандемных промоторов. *Гипотеза*: Векторы, управляемые специфическими для печени и тандемными специфическими для печени и мышц промоторами, будут демонстрировать пониженную иммуногенность по сравнению с векторами, управляемыми универсальным промотором. Чтобы проверить эту гипотезу, были сконструированы четыре вектора AAV, которые управляют экспрессией высокоиммуногенного мембраносвязанного овальбумина (mOVA). Эти векторы различаются своими последовательностям промоторов, которые включают: a) универсальный промотор CAG (SEQ ID NO: 411); b) специфический для печени промотор hAAT с расположенным выше энхансером ApoE (SEQ ID NO: 412); c) кассету специфического для мышц промотора CK8, состоящую из корового промотора CK и трех копий модифицированного энхансера MCK (SEQ ID NO: 413); и d) тандемного специфического для печени и мышц промотора 6 (LMTP6, SEQ ID NO: 320), который содержит элементы последовательности, полученные из hAAT и CK8. В первоначальных экспериментах измеряли иммунный ответ после внутривенного (IV) введения вектора мышам. Конечные точки исследования включали характеристику гуморальных и клеточно-опосредованных иммунных ответов против трансгенного продукта mOVA. Кроме того, ткани собирали для анализа биораспределения векторов и экспрессии трансгена.

6.61 ПРИМЕР 61: Экспрессия в плазме векторного ланаделумаба у яванского макака Cynomolgus Monkeys

Оценивали кинетику экспрессии ланаделумаба в плазме у нечеловеческих приматов, которым вводили AAV-векторы, кодирующие антитела ланаделумаб. Цель состояла в том, чтобы оценить и выбрать дозу вектора AAV8.ApoE.hAAT.Lan, которая приводит к устойчивой экспрессии ланаделумаба, составляющей по меньшей мере 200 мкг/мл ланаделумаба, в течение трех месяцев или более. Яванского макака выбрали в качестве тестируемой системы из-за ее признанной полезности и приемлемости в качестве модели для исследований биораспределения AAV у крупных видов животных и для дальнейшей трансляции на человека. Все животные в этом исследовании не подвергались предшествующему лечению.

Использовали девять особей яванского макака. Животных, признанных подходящими для экспериментов на основании данных клинических признаков и титров антител до скрининга, распределяли на три группы исследования, каждая из которых получала разную дозу вектора AAV, по массе тела с использованием случайных чисел, сгенерированных компьютером. Каждой группе из трех животных вводили однократную i.v. дозу вектора AAV8.ApoE.hAAT.Lan (описанного выше) в дозе $1x10^{12}$ копий генома/кг (группа 1), $1x10^{13}$ копий генома/кг (группа 2) и $1x10^{14}$ копий генома/кг (группа 3).

Клинические признаки регистрировали по меньшей мере один раз в день, начиная приблизительно за две недели до начала дозирования и продолжая в течение всего периода исследования. Животных наблюдали на наличие признаков клинических эффектов, болезненного состояния и/или смерти. Дополнительные наблюдения можно регистрировать в зависимости от состояния животного по усмотрению руководителя исследования и/или технических специалистов.

Образцы крови собирали из периферической вены для биоаналитического анализа перед введением дозы, а затем с недельными интервалами в течение по меньшей мере 3 месяцев (9 недель). Образцы собирали в пробирки для отделения плазмы и регистрировали время. Пробирки выдерживали при комнатной температуре до полного свертывания, затем центрифугировали при приблизительно 2400 об/мин при комнатной температуре в течение 15 минут. Сыворотку собирали, помещали в промаркированные сосуды, замораживали в жидком азоте и хранили при -60 °C или ниже.

Общее вскрытие выполняли на любом животном, найденном мертвым или умерщвленным умирающим, и в конце периода исследования, по меньшей мере через три месяца после введения вектора. Всем животным, за исключением обнаруженных мертвыми, внутримышечно вводили 8 мг/кг седативного средства кетамина HCl, поддерживали на смеси изофлуран/кислород и вводили внутривенно болюсно гепарин натрия в дозе 200 Ед/кг. Животных перфузировали через левый желудочек сердца 0,001% нитритом натрия в физиологическом растворе. Животных, найденных мертвыми, вскрывали, но не перфузировали.

В качестве анализа первичных конечных точек образцы плазмы анализировали на концентрацию ланаделумаба с помощью ELISA и/или вестерн-блоттинга, которую регистрировали по меньшей мере как мкг ланаделумаба на мл плазмы; и активность

ланаделумаба, например, ингибирование калликреина, с помощью флуорогенного анализа.

Присутствие антител против ланаделумаба (ADA) в сыворотке оценивали с помощью ELISA и анализов связывания ланаделумаба. Биораспределение вектора и кодирующих ланаделумаб транскриптов оценивали в образцах после вскрытия с помощью способов количественной PCR и NGS. Подлежащие анализу ткани включали печень, мышцы и сердце. Оценку токсичности проводили на основе полной патологии, включая анализ ферментов печени, анализ мочи, состояние сердечно-сосудистой системы и т.д.

6.62 ПРИМЕР 62: Векторные кассеты IgG и Fab адалимумаба: дизайн и характеристика

Конструировали кассету трансгена AAV (SEQ ID NO: 451), которая запускает повсеместную экспрессию векторного IgG адалимумаба (TNF001, SEQ ID NO: 452). Кодирующая белок последовательность состоит из тяжелой и легкой цепей адалимумаба, разделенных сайтом расщепления фурина, линкера Gly-Ser-Gly (GSG) (SEQ ID NO: 427) и последовательности самопроцессирующегося пептида T2A (SEQ ID NO: 429). Конкретная конфигурация последовательности обеспечивает экспрессию отдельных пептидов тяжелой и легкой цепей. Вся рамка считывания кодон-оптимизирована и лишена динуклеотидов CpG. Экспрессия управляется промотором CAG (SEQ ID NO: 411). Аналогичным образом разработана дополнительная кассета (SEQ ID NO: 453), которая управляет экспрессией Fab, содержащего вариабельные области адалимумаба (TNF002, SEQ ID NO: 454). Конструкции показаны на **фиг. 1**, и **фиг. 12A**, и последовательности представлены в таблице 17.

Таблица 17

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
TNF001 SEQ ID NO: 451	gacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcc catatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccca acgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggа ctttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatc aagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcct ggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtat tagtcatcgctattaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatct ccccccctcccccacccccaattttgtatttatttatttttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggggcgcgcgccaggcggggcggggcggggcgaggggcggg gcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttc cttttatggcgaggcggcggcggcggcggccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgg gagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgccgcctcgcgccgcccgc cccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcctc cgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggcttgtttcttttctgtggctgcgtgaaa gccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcgggggggtgcgtgcg

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	tgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgct gcgggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcgcgaggggagcgcggccgggg gcggtgccccgcggtgcgggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggggtgtgt gcgtgggggggtgagcaggggggtgtgggcgcgtcggtcgggctgcaacccccccctgcacc cccctccccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggggctccgtacggggcgtg gcgcggggctcgccgtgccgggcgggggggtggcggcaggtgggggtgccgggcggggcgg ggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggggcgcggcggccccggagcgccggcg gctgtcgaggcgcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgtgcgagagggcgc agggacttcctttgtcccaaatctgtgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcaccc cctctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggggagg gccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtcccttctccctctccagcctcggggctgtccgc ggggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggcgtgtga ccggcggctctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttctttttcctacagctcc tgggcaacgtgctggttattgtgctgtctcatcattttggcaaagaattcgccaccatgt acagaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattctgaag tgcagctggtggaaagtggtggtggactggtgcagcctggcagaagcctgagactgtctt gtgctgcctctggcttcacctttgatgactatgccatgcactgggtcagacaggcccctg gcaaaggactggaatgggtgtcagccatcacctggaactctggccacattgactatgctg actctgtggaaggcagattcaccatcagcagagacaatgccaagaacagcctgtacctgc agatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgccaaggtgtcctacc tgagcacagccagcagcctggattattggggccagggcacactggttacagtgtcctctg ccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagtggtg gaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgacagtgtctt ggaactcaggggctctgacctctggggtgcacacatttccagctgtgctgcagtcctctg gcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacccagacct acatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagaaggtggaaccca agagctgtgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgcttggaggcc cttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaacccctg aagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttcaattggt atgtggatggggttgaagtgcacaatgctaagaccaagcctagagaggaacagtacaaca gcacctacagagtggtgtctgtgctgacagtgctgcatcaggactggctgaatggcaaag agtacaagtgcaaagtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaaccatctcca aggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacacactgccacctagcagagatgagc tgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctgacattg ctgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagacaacccctcctgtgc tggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtccagatggc agcaggggaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccactacaccc agaaaagtctgagtctgagccctggcaagagaaagagaagaggctctggagaaggcagag gctccctgctgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatgcaac tgctcctcctgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatgacac agagccctagcagcctgtctgcttctgtgggagacagagtgaccatcacatgcagagcca gccagggaatcagaaactacctggcctggtatcagcaaaagcctggcaaggcccctaagc tgctgatctatgcagccagcacactgcagtcaggggtgccaagcagattttcaggctctg gctctggcacagacttcaccctgaccatttctagcctgcagcctgaggatgtggccacct actactgccagagatacaacagagccccatacacctttggacagggcacaaaggtggaaa tcaagagaacagtggctgccccatctgtgttcatcttcccaccatctgatgaacagctga agtctggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttctaccctagagaagccaagg tgcagtggaaggttgacaatgccctgcagtctggcaatagccaagaatctgtgacagagc aggactccaaggattccacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgact atgagaagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacacaccagggactgagcagcccagtga ccaagagcttcaacaggggagagtgctgataactcgaggacggggtgaactacgcctgag gatccgatcttttccctctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatc tgacttctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgt gtctctcactcg
Адалимумаб Трансген конструкции	atgtacagaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattct gaagtgcagctggtggaaagtggtggtggactggtgcagcctggcagaagcctgagactg tcttgtgctgcctctggcttcacctttgatgactatgccatgcactgggtcagacaggcc cctggcaaaggactggaatgggtgtcagccatcacctggaactctggccacattgactat

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
одноцепочечного полноразмерного mAb (TNF001) (HC-*Фурин-линкер-T2A*-LC) SEQ ID NO: 452	gctgactctgtggaaggcagattcaccatcagcagagacaatgccaagaacagcctgtac ctgcagatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgccaaggtgtcc tacctgagcacagccagcagcctggattattggggccagggcacactggttacagtgtcc tctgccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagt ggtggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgacagtg tcttggaactcaggggctctgacctctggggtgcacacatttccagctgtgctgcagtcc tctggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacccag acctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagaaggtggaa cccaagagctgtgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgcttgga ggcccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaacc cctgaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttcaat tggtatgtggatggggttgaagtgcacaatgctaagaccaagcctagagaggaacagtac aacagcacctacagagtggtgtctgtgctgacagtgctgcatcaggactggctgaatggc aaagagtacaagtgcaaagtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaaccatc tccaaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacacactgccacctagcagagat gagctgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctgac attgctgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagacaacccctcct gtgctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtccaga tggcagcaggggaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccactac acccagaaaagtctgagtctgagccctggcaagagaaagagaagaggctctggagaaggc agaggctccctgctgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatg caactgctcctcctgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatg acacagagccctagcagcctgtctgcttctgtgggagacagagtgaccatcacatgcaga gccagccagggaatcagaaactacctggcctggtatcagcaaaagcctggcaaggccccc aagctgctgatctatgcagccagcacactgcagtcaggggtgccaagcagattttcaggc tctggctctggcacagacttcaccctgaccatttctagcctgcagcctgaggatgtggcc acctactactgccagagatacaacagagccccatacacctttggacagggcacaaaggtg gaaatcaagagaacagtggctgccccatctgtgttcatcttcccaccatctgatgaacag ctgaagtctggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttctaccctagagaagcc aaggtgcagtggaaggttgacaatgccctgcagtctggcaatagccaagaatctgtgaca gagcaggactccaaggattccacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggct gactatgagaagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacacaccagggactgagcagccca gtgaccaagagcttcaacaggggagagtgctga
TNF002 SEQ ID NO: 453	gacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcc catatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccca acgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaataggga ctttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatc aagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcct ggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtat tagtcatcgctattaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatct ccccccctcccccacccccaattttgtatttatttatttttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggggcgcgcgccaggcggggcggggcggggcgagggggcggg gcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttc cttttatggcgaggcggcggcggcggcccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgg gagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgccgcctcgcgccgcccgc cccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcctc cgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggcttgtttcttttctgtggctgcgtgaaa gccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcgggggggtgcgtgcg tgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgct gcgggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcgcgaggggagcgcggccgggg gcggtgccccgcggtgcgggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggggtgtgt gcgtgggggggtgagcaggggggtgtgggcgcgtcggtcgggctgcaacccccccctgcacc cccctccccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggggctccgtacggggcgtg gcgcggggctcgccgtgccgggcgggggggtggcggcaggtgggggtgccgggcggggcgg ggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggggcgcggcggcccccggagcgccggcg gctgtcgaggcgcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgtgcgagagggcgc agggacttcctttgtcccaaatctgtgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcaccc cctctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggggagg

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	gccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtccccttctccctctccagcctcggggctgtccgc gggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggcgtgtga ccggcggctctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttcttttttcctacagctcc tgggcaacgtgctggttattgtgctgtctcatcattttggcaaagaattcgccaccatgt acagaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattctgaag tgcagctggtggaaagtggtggtggactggtgcagcctggcagaagcctgagactgtctt gtgctgcctctggcttcacctttgatgactatgccatgcactgggtcagacaggcccctg gcaaaggactggaatgggtgtcagccatcacctggaactctggccacattgactatgctg actctgtggaaggcagattcaccatcagcagagacaatgccaagaacagcctgtacctgc agatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgccaaggtgtcctacc tgagcacagccagcagcctggattattggggccagggcacactggttacagtgtcctctg ccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagtggtg gaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgacagtgtctt ggaactcaggggctctgacctctggggtgcacacatttccagctgtgctgcagtcctctg gcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacccagacct acatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagaaggtggaaccca agagctgtgacaagacccacagaaagagaagaggctctggagaaggcagaggctccctgc tgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatgcaactgctcctcc tgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatgacacagagcccta gcagcctgtctgcttctgtgggagacagagtgaccatcacatgcagagccagccagggca tcagaaactacctggcctggtatcagcagaagccaggcaaggcccctaagctgctgatct atgcagccagcacactgcagagtggggtgccaagcagattttcaggctctggctctggca cagacttcaccctgaccatttctagcctgcagcctgaggatgtggccacctactactgcc agagatacaacagagccccatacacctttggacagggcacaaaggtggaaatcaagagaa cagttgcagcaccctcagttttcatcttcccccctcagatgaacagctgaagtctggca ctgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttctaccccagagaagccaaggtgcagtgga aggttgacaatgccctgcagtcaggcaacagccaagaatctgtgactgaacaggattcca aggatagcacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgactatgagaagc acaaagtgtatgcctgtgaagtgacccaccagggactgagcagcccagtgaccaagagct tcaacaggggagagtgctgataactcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatc tttttccctctgccaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctg gctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcac tcg
Адалимумаб Трансген конструкции одноцепочечного Fab (TNF002) (HC-Фурин-линкер-T2A-LC) SEQ ID NO: 453	atgtacagaatgcagctgctgctgctcattgccctgtctctggccctggtcaccaattct gaagtgcagctggtggaaagtggtggtggactggtgcagcctggcagaagcctgagactg tcttgtgctgcctctggcttcacctttgatgactatgccatgcactgggtcagacaggcc cctggcaaaggactggaatgggtgtcagccatcacctggaactctggccacattgactat gctgactctgtggaaggcagattcaccatcagcagagacaatgccaagaacagcctgtac ctgcagatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgccaaggtgtcc tacctgagcacagccagcagcctggattattggggccagggcacactggttacagtgtcc tctgccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagt ggtggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgacagtg tcttggaactcaggggctctgacctctggggtgcacacatttccagctgtgctgcagtcc tctggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacccag acctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagaaggtggaa cccaagagctgtgacaagacccacagaaagagaagaggctctggagaaggcagaggctcc ctgctgacatgtggggatgttgaagagaatcctgggcctatgtataggatgcaactgctc ctcctgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactctgacatccagatgacacagagc cctagcagcctgtctgcttctgtgggagacagagtgaccatcacatgcagagccagccag ggcatcagaaactacctggcctggtatcagcagaagccaggcaaggcccctaagctgctg atctatgcagccagcacactgcagagtggggtgccaagcagattttcaggctctggctct ggcacagacttcaccctgaccatttctagcctgcagcctgaggatgtggccacctactac tgccagagatacaacagagccccatacacctttggacagggcacaaaggtggaaatcaag agaacagttgcagcaccctcagttttcatcttcccccctcagatgaacagctgaagtct ggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttctaccccagagaagccaaggtgcag tggaaggttgacaatgccctgcagtcaggcaacagccaagaatctgtgactgaacaggat tccaaggatagcacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgactatgag aagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacccaccagggactgagcagcccagtgaccaag

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	agcttcaacaggggagagtgctga
Адалимумаб Тяжелая цепь IgG1 (HC) SEQ ID NO: 444	gaagtgcagctggtggaaagtggtggtggactggtgcagcctggcagaagcctgagactg tcttgtgctgcctctggcttcacctttgatgactatgccatgcactgggtcagacaggcc cctggcaaaggactggaatgggtgtcagccatcacctggaactctggccacattgactat gctgactctgtggaaggcagattcaccatcagcagagacaatgccaagaacagcctgtac ctgcagatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgccaaggtgtcc tacctgagcacagccagcagcctggattattggggccagggcacactggttacagtgtcc tct**gccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagt** **ggtggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgacagtg** **tcttggaactcaggggctctgacctctggggtgcacacatttccagctgtgctgcagtcc** **tctggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacccag** **acctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagaaggtg***gaa* *cccaagagctgtgacaagacccacacctgtcctccatgtcct***gctccagaactgcttgga** **ggcccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcagaacc** **cctgaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggacccagaagtgaagttcaat** **tggtatgtggatggggttgaagtgcacaatgctaagaccaagcctagagaggaacagtac** **aacagcacctacagagtggtgtctgtgctgacagtgctgcatcaggactggctgaatggc** **aaagagtacaagtgcaaagtgtccaacaaggccctgcctgctcctattgagaaaaccatc** **tccaaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacacactgccacctagcagagat** **gagctgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaagggcttctacccctctgac** **attgctgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagacaacccctcct** **gtgctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctgactgtggacaagtccaga** **tggcagcaggggaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccactac** **acccagaaaagtctgagtctgagccctggcaag** *IgG1 CH1 and CH2 are shown bold; hinge region is shown in italic.*
Адалимумаб VH SEQ ID NO: 445	Gaagtgcagctggtggaaagtggtggtggactggtgcagcctggcagaagcctgagactg tcttgtgctgcctctggcttcacctttgatgactatgccatgcactgggtcagacaggcc cctggcaaaggactggaatgggtgtcagccatcacctggaactctggccacattgactat gctgactctgtggaaggcagattcaccatcagcagagacaatgccaagaacagcctgtac ctgcagatgaactccctgagagctgaggacacagcagtgtactactgtgccaaggtgtcc tacctgagcacagccagcagcctggattattggggccagggcacactggttacagtgtcc tct *CDRs are underlined.*
IgG1 CH1 SEQ ID NO: 446	gccagcacaaagggcccctctgtttttccactggctcccagcagcaagagcaccagtggt ggaacagctgccctgggctgtctggtcaaggattacttccctgagcctgtgacagtgtct tggaactcaggggctctgacctctggggtgcacacatttccagctgtgctgcagtcctct ggcctgtactctctgtcctctgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacccagacc tacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagaaggtg
IgG1 CH2 SEQ ID NO: 447	gctccagaactgcttggaggcccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacacc ctgatgatcagcagaaccctgaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggac ccagaagtgaagttcaattggtatgtggatggggttgaagtgcacaatgctaagaccaag cctagagaggaacagtacaacagcacctacagagtggtgtctgtgctgacagtgctgcat caggactggctgaatggcaaagagtacaagtgcaaagtgtccaacaaggccctgcctgct cctattgagaaaaccatctccaaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacaca ctgccacctagcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaag ggcttctacccctctgacattgctgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaac tacaagacaacccctcctgtgctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctg actgtggacaagtccagatggcagcaggggaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgag gccctgcacaaccactacacccagaaaagtctgagtctgagccctggcaag
Адалимумаб Легкая цепь (kappa) SEQ ID NO: 448	gctccagaactgcttggaggcccttctgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacacc ctgatgatcagcagaaccctgaagtgacctgtgtggtggttgatgtgtcccatgaggac ccagaagtgaagttcaattggtatgtggatggggttgaagtgcacaatgctaagaccaag cctagagaggaacagtacaacagcacctacagagtggtgtctgtgctgacagtgctgcat caggactggctgaatggcaaagagtacaagtgcaaagtgtccaacaaggccctgcctgct cctattgagaaaaccatctccaaggccaagggccagccaagagaaccccaggtttacaca ctgccacctagcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgacctgcctggttaag

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	ggcttctacccctctgacattgctgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaac tacaagacaacccctcctgtgctggactctgatggctcattcttcctgtacagcaagctg actgtggacaagtccagatggcagcaggggaatgtgttcagctgctctgtgatgcatgag gccctgcacaaccactacacccagaaaagtctgagtctgagccctggcaag
Адалимумаб VL SEQ ID NO: 449	Gacatccagatgacacagagccctagcagcctgtctgcttctgtgggagacagagtgacc atcacatgcagagccagccagggaatcagaaactacctggcctggtatcagcaaaagcct ggcaaggcccctaagctgctgatctatgcagccagcacactgcagtcaggggtgccaagc agattttcaggctctggctctggcacagacttcaccctgaccatttctagcctgcagcct gaggatgtggccacctactactgccagagatacaacagagccccatacacctttggacag ggcacaaaggtggaaatcaag *CDRs are underlined.*
Адалимумаб С-домен легкой цепи (CL) SEQ ID NO: 450	agaacagttgcagcaccctcagttttcatcttcccccctcagatgaacagctgaagtct ggcactgcctctgttgtgtgcctgctgaacaacttctaccccagagaagccaaggtgcag tggaaggttgacaatgccctgcagtcaggcaacagccaagaatctgtgactgaacaggat tccaaggatagcacctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgactatgag aagcacaaagtgtatgcctgtgaagtgacccaccagggactgagcagcccagtgaccaag agcttcaacaggggagagtgctga

Экспрессию плазмиды характеризовали с помощью вестерн-блоттинга после трансфекции в клетки 293T (**фиг. 36A**). Кроме того, активность экспрессируемых плазмидой антител оценивали с помощью ELISA в отношении связывания рекомбинантного человеческого TNFα (**фиг. 36B**). Кроме того, эту плазмиду использовали для получения рекомбинантных векторов AAV8. Экспрессию и активность адалимумаба, продуцируемого из AAV8, оценивали с помощью вышеупомянутых анализов (**фиг. 37A-37C**).

6.63 ПРИМЕР 63: Самокомплементарные трансгенные кассеты Fab адалимумаба: дизайн и характеристика

Были созданы две самокомплементарные трансгенные кассеты AAV (scAAV), кодирующие векторный Fab адалимумаба. Трансгены управляются универсальными коровыми промоторами mUla (SEQ ID NO: 414) или EF-lα (SEQ ID NO: 415). Эти плазмиды сравнивали на экспрессию Fab посредством трансфекции в клетки 293T (**фиг. 38**). Вектор, управляемый mUla, показал более высокие значения абсорбции, что свидетельствует о более высокой концентрации Fab в клеточном супернатанте.

6.64 ПРИМЕР 64: Связывание TNFα по видам моделей с векторными IgG и Fab адалимумаба

Векторные кандидаты адалимумаба для TNFα, выделенные из видов моделей, включая человека, мышь и крысу, тестировали на их связывающую способность. Векторные антитела экспрессировали и секретировали в клеточный супернатант после трансфекции цис-плазмидой клеток 293T. Клеточный супернатант тестировали с

помощью ELISA, где планшеты были покрыты рекомбинантным TNFα, происходящим от вышеупомянутых видов (**фиг. 39**). IgG адалимумаба эффективно связывает человеческий и мышиный TNFα. Fab демонстрирует аналогичный профиль связывания с человеческим TNFα, что и IgG. Однако Fab проявляет слабое связывание с мышиным TNFα по сравнению с IgG адалимумаба. Как IgG, так и Fab проявляют гораздо меньшее связывание с крысиным TNFα.

6.65 ПРИМЕР 65: AAV-опосредованная глазная генная терапия неинфекционного заднего увеита

Неинфекционный задний увеит представляет собой форму воспаления глаза, которая поражает сетчатку и сосудистую оболочку глаза и приводит к слепоте. Он поражает примерно 38000 американцев в год. Пациентов обычно лечат системными стероидами или кортикостероидами, что приводит к высокому риску системных осложнений. В 2016 году Хумира (адалимумаб), человеческое моноклональное антитело, нацеленное на фактор некроза опухоли альфа (TNFα), было одобрено FDA и стало единственным системным некортикостероидным средством для лечения неинфекционного увеита (NIU) и широко применялось с того времени. В этом исследовании полноразмерное антитело адалимумаб или Fab в аденоассоциированном вирусном (AAV) векторе, таком как AAV8.CAG.адалимумаб.IgG или AAV8.CAG.адалимумаб.Fab, а также AAV8.CAG.GFP, оценивали на AAV-опосредованную экспрессию антител *in vivo* в тканях глаза мыши посредством местного введения. В качестве контрольного вектора использовали AAV8.NUL. Также проводили исследования эффективности на модели EAU на грызунах для изучения терапевтического потенциала AAV-опосредованного анти-TNFα лечения для NIU.

Векторную последовательность адалимумаба сконструировали и тестировали in vitro. Далее оценивали эффективность трансдукции и специфичность клеточного типа у мышей дикого типа. В этом исследовании использовали молодых взрослых мышей C57BL/6 и B10.RIII (возраст 8-10 недель). Векторы, включая AAV8.CAG.адалимумаб.IgG, AAV8.CAG.адалимумаб.Fab, AAV8.CAG.GFP и AAV8.NUL, доставляли в глаза мышей посредством субретинальной (SR) инъекции в различных дозах (1×10^7, 1×10^8 и 1×10^9 гв/глаз) в 1 мкл буфера для составления. Визуализацию глазного дна и ОСТ выполняли через 1, 2 и 4 недели после SR инъекции. Образцы тканей глаза собирали через 5 недель после введения. Уровни экспрессии антител или слитых белков в тканях глаза количественно определяли с помощью ELISA. Специфичность клеточного типа определяли

иммунофлуоресцентным окрашиванием различными маркерами клеток сетчатки. Тестируемый вектор(ы) выбирали для исследования эффективности. Также изучали различные пути введения (ROA), включая супрахориоидальные, внутрикамерные и интравитреальные инъекции. Предпочтительный ROA использовали для исследования эффективности.

Исследования эффективности проводили путем индукции экспериментального аутоиммунного увеита (EAU) у мышей B10.RIII путем иммунизации человека пептидом IRBP. Опосредованный Т-клетками глазной аутоиммунный ответ возникал в этой модели с пиком приблизительно через 11-18 дней после индукции. Тестируемый вектор вводили в глаз мыши предпочтительным ROA за 2 недели до или через 1 неделю после индукции EAU. В контралатеральный глаз доставляли вектор AAV.NUL, который служил в качестве контроля. Исследование глазного дна, OCT-визуализацию, электроретинографию (ERG) и оптокинетический нистагм (OKN) проводили через 10, 17 и 30 недель после индукции EAU для мониторинга развития заболевания. Глазные ткани или глазные яблоки целиком собирали через 5 недель после индукции EAU. Уровни экспрессии антитела или белка слияния в тканях глаза обнаруживали и количественно определяли с помощью ELISA. Изменения структуры сетчатки и выживаемость нейронов оценивали с помощью гистологии и иммунофлуоресцентного окрашивания.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

Хотя изобретение подробно описано со ссылкой на его конкретные варианты осуществления, следует понимать, что варианты, которые являются функционально эквивалентными, находятся в пределах объема настоящего изобретения. Действительно, различные модификации изобретения в дополнение к тем, которые показаны и описаны в данном документе, станут очевидными для специалистов в данной области из предшествующего описания и сопровождающих графических материалов. Предполагается, что такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Специалисты в данной области распознают или смогут установить, используя не более чем обычные эксперименты, множество эквивалентов описанных в настоящем документе конкретных вариантов осуществления изобретения. Такие эквиваленты охватываются следующей формулой изобретения.

Все публикации, патенты и заявки на патенты, упомянутые в настоящем документе, включены в настоящий документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент были специально и

индивидуально указаны для включения в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Формула изобретения

1. Фармацевтическая композиция для лечения ангионевротического отека, включая наследственный ангионевротический отек, у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

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

при этом указанный AAV-вектор составлен для введения субъекту, необязательно при этом введение является внутривенным, подкожным, интраназальным или внутримышечным.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где анти-pKal mAb представляет собой ланаделумаб.

3. Фармацевтическая композиция для доставки ланаделумаба в кровоток для лечения наследственного ангионевротического отека у нуждающегося в этом субъекта-человека, при этом указанная композиция содержит рекомбинантный AAV, содержащий трансген, кодирующий ланаделумаб, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках мышц и/или печени, при этом указанный рекомбинантный AAV вводят указанному субъекту-человеку в дозе, достаточной для того, чтобы обеспечить экспрессию из трансгена и секрецию ланаделумаба в кровоток субъекта-человека для получения уровней ланаделумаба в плазме в диапазоне от по меньшей мере 5 мкг/мл до по меньшей мере 35 мкг/мл ланаделумаба у указанного субъекта.

4. Способ по п. 3, в котором уровни ланаделумаба в плазме составляют от 20 мкг/мл до 35 мкг/мл, и уровни ланаделумаба в плазме сохраняются в течение по меньшей мере трех месяцев.

5. Способ по п. 3 или 4, где антитело ланаделумаб, секретируемое в плазму, демонстрирует снижение активности pKal более чем по меньшей мере на 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% или 70%, измеренное с помощью кинетического ферментативного функционального анализа, при этом активность антитела ланаделумаба измеряли через 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель или 12 недель после указанного введения.

6. Фармацевтическая композиция для доставки антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в кровоток нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид AAV, который инфицирует клетки печени и/или мышц; и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с химерным промотором, который управляет экспрессией в клетках мышц и печени;

где указанный AAV-вектор составлен для внутримышечного введения.

7. Фармацевтическая композиция по п. 6, где химерный промотор представляет собой LMTP6 (SEQ ID NO: 320), LMTP13 (SEQ ID NO: 321), LMTP14 (SEQ ID NO: 322), LMTP15 (SEQ ID NO: 323), LMTP18 (SEQ ID NO: 324), LMTP19 (SEQ ID NO: 325) или LMTP20 (SEQ ID NO: 326).

8. Фармацевтическая композиция для лечения неинфекционного увеита у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142), капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к фактору некроза опухоли-альфа (анти-TNFα) или его антигенсвязывающий фрагмент, по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к компоненту 5 комплемента (C5) или его антигенсвязывающий фрагмент, по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к интерлейкину-6 (IL-6) или его антигенсвязывающий фрагмент, или по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к рецептору интерлейкина-6 (IL-6R), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для субретинального, интравитреального, интраназального или супрахориоидального введения субъекту.

9. Фармацевтическая композиция по п. 8, где анти-TNFα mAb представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб; анти-C5 mAb представляет собой тезидолумаб или равулизумаб; анти-IL-6 mAb представляет собой силтуксимаб, клазакимзумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб; или анти-IL-6R mAb представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб.

10. Фармацевтическая композиция для лечения болезни Альцгеймера, лобно-височной деменции (FD), таупатий, прогрессирующего надъядерного паралича, хронической травматической энцефалопатии, комплекса Пика и первичной возрастной таупатии, болезни Хантингтона, ювенильной болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, синуклеинопатий, ALS, мигреней или кластерных головных болей у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), имеющий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145), капсида AAVrh20, капсида AAVrh39 или капсида AAVcy5; и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное или по

существу полноразмерное mAb к бета-амилоиду (анти-Aβ), к сортилину, к тау-белку (анти-тау), к семафорину 4D (анти-SEMA4D), к альфа-синуклеину (анти-SNCA), к супероксиддисмутазе-1 (анти-SOD1) или к рецептору кальцитоин-ген-родственного пептида (анти-CGRPR), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС, мышц или печени человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для введения субъекту, необязательно, где введение является интратекальным, внутривенным, подкожным, интраназальным или внутримышечным.

11. Фармацевтическая композиция по п. 10, где анти-Aβ mAb представляет собой соланезумаб, леканемаб или GSK933776; анти-сортилин mAb представляет собой AL-001; анти-тау mAb представляет собой ABBV-8E12, UCB-0107 или NI-105 (BIIB076); анти-SEMA4D mAb представляет собой VX15/2503; анти-SNCA mAb представляет собой празинезумаб, NI-202 (BIIB054) или MED-1341; анти-SOD1 mAb представляет собой NI-2041.10D12 или NI-204.12G7; и анти-CGRPR mAb представляет собой эптинезумаб, фреманезумаб или галканезумаб.

12. Фармацевтическая композиция для лечения заболеваний сетчатки, включая диабетическую ретинопатию, миопическую хориоидальную неоваскуляризацию (mCNV), дегенерацию желтого пятна (например, неоваскулярную (влажную) или сухую возрастную дегенерацию желтого пятна (nAMD)), отек желтого пятна (например, отек желтого пятна после окклюзии вены сетчатки (RVO) или диабетический макулярный отек (DME)), окклюзию вены сетчатки, диабетическую ретинопатию (DR), неинфекционный увеит или глаукому, или аномальную васкуляризацию сетчатки, у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV2.7m8 (142), капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное или по существу полноразмерное mAb к васкулярному эндотелиальному фактору роста (анти-

VEGF), к рецептору эритропоэтина (анти-EPOR), к Aβ, к подобной рецептору активина киназе-1 (анти-ALK1), к компоненту 5 комплемента (анти-C5), к эндоглину (анти-ENG), к компоненту 1Q комплемента (анти-CC1Q), к фактору некроза опухоли-альфа (анти-TNFα) или к pKal, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для субретинального, интравитреального, супрахориоидального или интраназального введения указанному субъекту.

13. Фармацевтическая композиция по п. 12, где анти-VEGF mAb представляет собой севацизумаб; анти-EPOR mAb представляет собой LKA-651 (NSV2) или LKA-651 (NSV3); анти-Aβ mAb представляет собой соланезумаб, леканемаб или GSK933776; анти-ALK1 mAb представляет собой аскринвакумаб; анти-C5 mAb представляет собой тезидолумаб или равулизумаб; анти-ENG mAb представляет собой каротуксимаб; анти-CC1Q mAb представляет собой ANX-007; где анти-TNFα mAb представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб; и анти-pKal mAb представляет собой ланаделумаб.

14. Фармацевтическая композиция для лечения рассеянного склероза у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145), капсида AAVrh20, капсида AAVrh39 или капсида AAVcy5; и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное или по существу полноразмерное mAb к молекуле-A отталкивающего направляющего сигнала (анти-RGMa) или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ЦНС, печени или мышц человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для введения субъекту, необязательно, где введение является интратекальным, внутривенным, подкожным, интраназальным или внутримышечным.

15. Фармацевтическая композиция по п. 14, где анти-RGMa mAb представляет собой елезанумаб.

16. Фармацевтическая композиция для лечения амилоидоза (ATTR), семейной амилоидной кардиомиопатии (FAC) или семейной амилоидной полинейропатии (FAP) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(c) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145), капсида AAVrh20, капсида AAVrh39 или капсида AAVcy5; и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное или по существу полноразмерное анти-TTR mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для введения субъекту, необязательно, где введение является внутривенным, подкожным, интраназальным или внутримышечным.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, где анти-TTR mAb представляет собой NI-301 или PRX-004.

18. Фармацевтическая композиция для лечения фиброзных нарушений, легочного фиброза, муковисцидоза (CF), идиопатического легочного фиброза (IPF), цирроза печени, фиброза предсердий, эндомиокардиального фиброза, старого инфаркта миокарда, артрофиброза, болезни Крона, язвенного колита, фиброза средостения, миелофиброза (MF), нефрогенного системного фиброза (NSF), прогрессирующего

массивного фиброза (PMF) и ретроперитонеального фиброза (RPF) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(c) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144) или AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(d) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное или по существу полноразмерное mAb к фактору роста соединительной ткани (анти-CTGF) или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для введения указанному субъекту, необязательно, где введение является внутривенным, подкожным, интраназальным или внутримышечным.

19. Фармацевтическая композиция по п. 18, где анти-CTGF mAb представляет собой памревлумаб.

20. Фармацевтическая композиция для лечения неинфекционного увеита, оптического нейромиелита (NMO), диабетической ретинопатии (DR) или диабетического макулярного отека (DME) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV2.7m8 (SEQ ID NO: 142) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами AAV (ITR), причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное или по существу полноразмерное mAb к рецептору интерлейкина-6 (анти-IL6R), к интерлейкину 6 (IL6) или к кластеру дифференцировки 19 (анти-CD19), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках сетчатки человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для введения указанному субъекту, необязательно, где введение является интраназальным, субретинальным, интравитреальным или супрахориоидальным.

21. Фармацевтическая композиция по п. 20, где анти-IL6R mAb представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб, или анти-IL6 mAb представляет собой силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб, или анти-CD19 mAb представляет собой инебилизумаб.

22. Фармацевтическая композиция для уменьшения, ингибирования или ослабления вредного иммунного ответа у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143), капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144), капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное mAb к рецептору интерлейкина-6 (анти-IL6R) или к интерлейкину-6 (IL6), или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для подкожного, внутримышечного, внутривенного или легочного введения субъекту.

23. Фармацевтическая композиция по п. 22, где анти-IL6R mAb представляет собой сатрализумаб, сарилумаб или тоцилизумаб, или анти-IL6 mAb представляет собой силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилимзумаб.

24. Фармацевтическая композиция для лечения воспалительного заболевания кишечника (IBD), включая UC и CD, у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); или капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное или по существу полноразмерное mAb к β7-субъединице интегрину (анти-ITGB7) или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для введения субъекту, необязательно, где введение является внутривенным, подкожным, интраназальным или внутримышечным.

25. Фармацевтическая композиция по п. 24, где анти-ITGB7 mAb представляет собой этролизумаб.

26. Фармацевтическая композиция для лечения остеопороза или аномальной потери костной массы, или слабости (например, лечения гигантоклеточной опухоли костной ткани, лечения потери костной массы вызванной лекарственными средствами, замедления потери (или увеличения) костной массы у пациентов с раком молочной железы и предстательной железы, предотвращения связанных со скелетом событий вследствие метастазов в кости, или снижения резорбции и обмена кости у нуждающегося в этом субъекта человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143); капсида AAVrh10 (SEQ ID NO: 145); или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144);

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий полноразмерное или по существу полноразмерное mAb к склеростину (анти-SOST) или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или несколькими регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для введения субъекту, необязательно, где введение является внутривенным, подкожным, интраназальным или внутримышечным.

27. Фармацевтическая композиция по п. 26, где анти-SOST mAb представляет собой ромосозумаб.

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

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-IL13 mAb или анти-IL31RA, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

29. Фармацевтическая композиция по п. 28, где анти-IL13 или IL31RA представляет собой тралокинумаб или немолизумаб.

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

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-IL5R mAb или анти-IgE mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или

более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

31. Фармацевтическая композиция по п. 30, где анти-IL5R или анти-IgE mAb представляет собой реслизумаб или омализумаб.

32. Фармацевтическая композиция для лечения астмы или хронического обструктивного заболевания легких (COPD) у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

(b) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-IL5, анти-IL-5R, анти-IgE или анти-TSLP mAb, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени человека или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

33. Фармацевтическая композиция по п. 32, где анти-IL-5, анти-IL5R, анти-IgE или анти-TSLP mAb представляет собой бенрализумаб, реслизумаб, омализумаб или тезепелумаб.

34. Фармацевтическая композиция для лечения хронической идиопатической крапивницы у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(a) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

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

при этом указанный AAV-вектор составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

35. Фармацевтическая композиция по п. 34, где анти-IgE mAb представляет собой омализумаб.

36. Фармацевтическая композиция для лечения миастении гравис у нуждающегося в этом субъекта-человека, содержащая AAV-вектор, содержащий:

(c) вирусный капсид, который по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности капсида AAV8 (SEQ ID NO: 143) или капсида AAV9 (SEQ ID NO: 144); и

(d) искусственный геном, содержащий экспрессионную кассету, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, причем экспрессионная кассета содержит трансген, кодирующий анти-C5 mAb или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках печени или мышечных клетках человека;

при этом указанный AAV-вектор составлен для внутривенного введения в печень или мышцу указанного субъекта.

37. Фармацевтическая композиция по п. 36, где анти-C5 представляет собой равулизумаб.

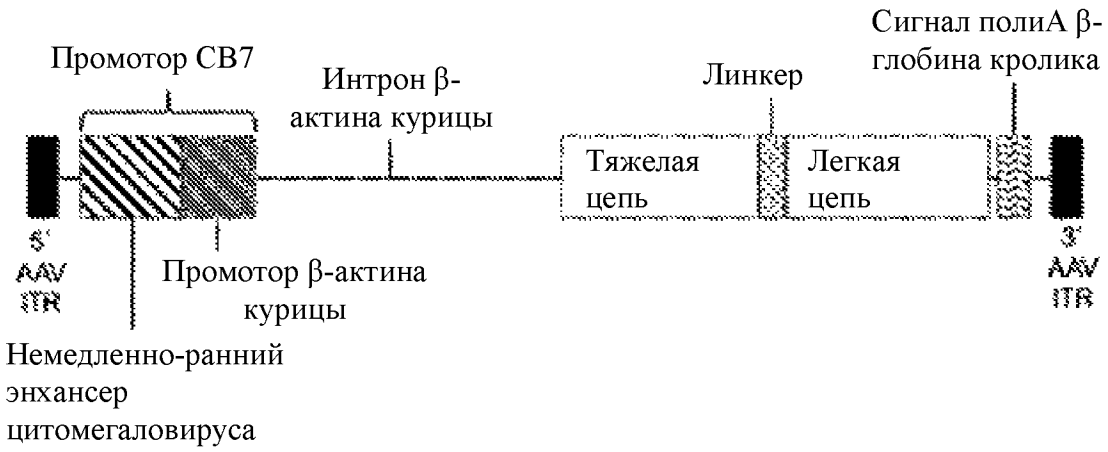
38. Способ определения активности человеческого анти-pKal антитела в образце, при этом указанный способ включает:

a. инкубацию образца с активированным pKal человека;

b. затем инкубацию образца, инкубированного с активированным pKal человека, с синтетическим субстратом Pro-Phe-Arg-AMC;

c. измерение высвобождения АМС в течение трех часов по сравнению с контрольным образцом.

ФИГ. 1



ФИГ. 2А Конструкция Fab IgG1 соланезумаба:

Лидер (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь соланезумаба (SEQ ID NO: 1)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYSMSWVRQAPGKGLELVAQINSVGNSTYY
PDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASGDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (or KTHL) +/-
CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP) SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь соланезумаба (SEQ ID NO: 2)
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLIYSDGNAYLHWFLQKPGQSPRLLIYKVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY и YCASGDYW = Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236 и 237)
QGT– Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
NX(S/T) = Консенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 249)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDVGVYY– Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 238)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 2B Конструкция Fab IgG1 GSK933776:

Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь GSK933776 (SEQ ID NO: 3)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNGMAWVRQAPGKGLEWVSFISNLAYSIDY
ADTVTGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVSGTWFAYWGQGTLVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)
+/- CPPCPA +/- PELAGAPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP) SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь GSK933776 (SEQ ID NO: 4)
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRVSQSLLHSNGYTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQTRHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT– Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGA = Шарнирная область (SEQ ID NO: 202)
Or
EPKSCDKTHLCPPCPAPELAGA = Шарнирная область (SEQ ID NO: 203)
A24 может быть заменен на V

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDVGVYY– Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 238)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 2С Конструкция Fab IgG1 леканемаба:

Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь лекенемаба (SEQ ID NO: 360)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGSSTIYY
GDTVKGRFTISRDNAKNSLFLQMSSLRAEDTAVYYCAREGGYYYGRSYYTMDYWGQGTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или
KTHLI +/-CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь лекенемаба (SEQ ID NO: 361)
DVVMTQSPLSLPVTPGAPASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGIYYCFQGSHVPPTFGPGTKLEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 194))
Or
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDVGIVYY– Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 409)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 3 Конструкция Fab IgG1 AL-001

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь AL-001 (SEQ ID NO: 5)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYYMSWVRQAPGQGLEWMGIINPIGGSTSY
AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS*EDTAVYY*CARDPSGIALAGPASRGYQGMDVWG
QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV**SWN**SGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV*EPKSCD +/- KTHT*
*(или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGG*PSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь AL-001 (SEQ ID NO: 6)
EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSV**SSN**LAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPA
RFSGSGSGTEFTLTISSLQS*EDFAVYY*C**QQ**ARLGPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ**SGN**SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK**SFN**RGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 239)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 4А Конструкция Fab IgG4 ABBV-8E12

Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь ABBV-8E12 (SEQ ID NO: 7)
EVKVVESGGGLVQPGGSMKLSCVVSGFTFSNYWVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKSDNYAT
HYEESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDSGIYYCTNWEDYWGQGTTVTVSSASTKG
PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY+/- GPPCPPCPA (или GPPCP
SCPA) +/- PEFLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь ABBV-8E12 (SEQ ID NO: 8)
DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCRASQSVSTSRYSYIHWYQQKPGQFPKLLIKYASNLES
GVPSRFSGSGSGTDFTLNIHPLEPEDFATYYCHHSWEIPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDSGIYY и *NWEDYW* = Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 240 и 241)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ESKYGPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 214)
или
ESKYGPPCPSCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 215)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 4B Конструкция Fab IgG4 UCB-0107

Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь UCB-0107 (SEQ ID NO: 9)
EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTSNDIAWIRQPPGKGLEWMGTIWTDGSTNYN
QAVQSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHRLYYGAFDYWGQGTMVTVSSAS
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY+/- GPPCPPCPA (или CP
PCPSCPA) +/- PEFLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь UCB-0107 (SEQ ID NO: 10)
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLEYSDGYTYLEWYLQKPGQSPQLLIYEVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQATHNPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказано для aTAU)
DTAVYY и *YYGAFD* = Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 243 и 244)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ESKYGPPCPPCPAPEFLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 214)
или
ESKYGPPCPSCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 215)
A61 может быть заменен на T

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказано для aTAU)
EDVGVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 238)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 4С Конструкция Fab IgG1 NI-105:

Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь NI-105 (SEQ ID NO: 11)
QVQLVESGGGVVQPGRSLRVSCAASGFTFSSYDMHWVRQAPGKGLEWVAVIWFDGSNEFY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLFQMNSLRAEDTAVYYCARDLGASVTTSNAENFHHWGQGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT
(или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELAGAPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь NI-105 (SEQ ID NO: 12)
SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKRYVYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPET
FSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSNGHHWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLF
PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTCS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
f = Шарнирная область (SEQ ID NO: 202)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGA = Шарнирная область (SEQ ID NO: 202)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELAGA = Шарнирная область (SEQ ID NO: 203)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDEADYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 245)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 5 Конструкция Fab IgG4 VX15/2503

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь VX15/2503 (SEQ ID NO: 13)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFSDYYMHWVRQAPGQGLEWMGQINPTTGGASY
NQKFKGKATITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYYYGRHFDVWGQGTTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVTVSSVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY+/- GPPCPPCPA
(или GPPCPSCPA)+/- PEFLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь VX15/2503 (SEQ ID NO: 14)
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPYTFGQGTKLEIKFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA
DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY и YYYGRHFD= Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236 и 246)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ESKYGPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 214)
или
ESKYGPPCPSCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 215)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
SQSVDYDGDSY и EDVAVYY = Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 247 и 248)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 6А Конструкция Fab IgG1 празинезумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь празинезумаба (SEQ ID NO: 15)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVASISSGGGSTYY
PDNVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGAGIDYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)
+/-CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь празинезумаба (SEQ ID NO: 16)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSIQTLLYSSNQKNYLAWFQQKPGKAPKLLIYWASIR
KSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLATYYCQQYYSYPLTFGGGTKLEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT– Сайт гликозилирования (O) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDLATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 249)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 6В Конструкция FAB IgG1 NI-202

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь NI-202 (SEQ ID NO: 17)
EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINAGNGKRKY
SQKFQDRVTINRDTSASTIYMELSSLGSEDTAVYYCAREEDHAGSGSYLSMDVWGQGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или
KTHL) +/-CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь NI-202 (SEQ ID NO: 18)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSIQTLLYSSNQKNYLAWFQQKPGKAPKLLIYWASIR
KSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLATYYCQQYYSYPLTFGGGTKLEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT– Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDLATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 249)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 6C Конструкция Fab IgG1 MEDI-1341/TAK 341

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь MEDI-1341/TAK 341 (SEQ ID NO: 19)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISHLGGSTYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGANHGKYYYGMDKWGQGTTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)
+/- CPPCPA +/- PEFEGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь MEDI-1341/TAK (SEQ ID NO: 20)
QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGAPLPKYRIYWYQQKPGSPPQYLLRYKSDADKHQ
GSGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMVWDHGVWYFGGGTKLTVLGQPKA
APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK
YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT– Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 206)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPEFEGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 207)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDEADYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 245)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 7A Конструкция Fab IgG1 NI-204.10D12

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь NI-204.10D12 (SEQ ID NO: 21)
EVQLVESGGDLVRPGGSLRLSCVASGFTFSNYWMHWVRQAPGQRPVWVSRTNTDGRNTAY
ADYAKGRFTISRDNAKSTLYLQLNSLRAEDTAVYFCARLRRNVADQITHNYYMDVWGKGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT
(или KTHL) +/- CPPCPA +/- PKAAGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь NI-204.10D12 (SEQ ID NO: 22)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTACRASQSVGTYLNWYQQKRGKAPKLLIFAASSLQSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 210)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 211)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
EKHKVY – Сайт Y-сульфатирования
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 7B Конструкция Fab IgG1NI- 204.12G7

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь NI-204.12G7 (SEQ ID NO: 23)
QVQLVQSGAEVKKPGASVTLSCKASGYTFTAYYIHWVRQAREQGLEWMGVINPSTGTTFY
AQNFPDRVSVTRDTSTSTVFMELHNLKSEDTAVYYCARAISEHGSGSYSPYYWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или
KTHTL) +/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь NI-204.12G7 (SEQ ID NO: 24)
SYELTQPPSVSVSLGQMAAITCSGEALPKKYGYWYQQKPGQVPVLLIYRDVERPSGVPDR
FSGSSSGTMVTLTISGVQAEDEADYYCLSADSSGTWVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFP
PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLS
LTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 210)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 211)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDEADYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 245)

ФИГ. 8А Конструкция Fab IgG1 эптинезумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь эптинезумаба (SEQ ID NO: 25)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGYYMNWVRQAPGKGLEWVGVIGINGATYYA
SWAKGRFTISRDNSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARGDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVEPKSCD +/- RTHT (или KTHL) +/-
CPPCPA +/- PELLGGPSVTL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь эптинезумаба (SEQ ID NO: 26)
QVLTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSVYHNTYLAWYQQKPGKVPKQLIYDASTLASGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
DLSGYY и *EDTAVY* = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 252 и 250)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDVATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 253)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 8B Конструкция Fab IgG2 фреманезумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь фреманезумаба (SEQ ID NO: 27)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWISWVRQAPGKGLEWVAEIRSESDASAT
HYAEAVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCLAYFDYGLAIQNYWGQGTLVTV
SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVE +/- CPPCPA +/-
PPVAG
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP) SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь фреманезумаба (SEQ ID NO: 28)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASKRVTTYVSWYQQKPGQAPRLLIYGASNRYLGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCSQSYNYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ERKCCVECPPCPAPPVAG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 220)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 239)
QGT– Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 8C Конструкция Fab IgG4 галканезумаб

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь галканезумаба (SEQ ID NO: 29)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFGNYWMQWVRQAPGQGLEWMGAIYEGTGKTVY
IQKFADRVTITADKSTSTAYMELSSLRS*EDTAVYY*CARLSDYVSGFGYWGQGTTVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV*ESKY+/-GPPCPPCPA (или GP*
*PCPSCPA) +/- PEAAGG*PSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь галканезумаба (SEQ ID NO: 30)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKDISKYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSGYHSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQP*EDFATYY*CQQGDALPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (O) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ESKYGPPCPPCPAPEAAGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 431)
или
ESKYGPPCPSCPAPEAAGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 432)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 9A Конструкция Fab IgG1 севацизумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь севацизумаба (SEQ ID NO: 31)
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFSFSNNDVMCWVRQAPGKGLEWIGCIMTTDVVTE
YANWAKSRFTVSRDSAKNSVYLQMNSLRAEDTAVYFCARDSVGSPLMSFDLWGPGTLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или
KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь севацизумаба (SEQ ID NO: 32)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTINCQASQSIYNNNELSWYQQKPGKPPKLLIYRASTLASGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCGGYKSYSNDGNGFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDVATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 253)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 9B Конструкция Fab IgG1 LKA-651 NVS2

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь LKA-651 NVS2 (SEQ ID NO: 33)
EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGWIDPYRSEIRY
SPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVSSEPFDSWGQGTLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)
CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь LKA-651 NVS2 (SEQ ID NO: 34)
SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCSGDKLGDHYAYWYQQKPGQAPVLVIYDDSKRPSGIPERF
SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCATWTFEGDYVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS
SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
DTAMYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 254)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)
Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DEADYY и TFEGDYVF= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 255 и 256)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 9C Конструкция Fab IgG1 LKA-651 NVS3

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь LKA-651 NVS3 (SEQ ID NO: 35)
QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNTAAWNWIRQSPSRGLEWLGVIYYRSKWY
NDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARSVPGGDPGLEHAFAYWGRG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT
(или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь LKA-651 NVS3 (SEQ ID NO: 36)
SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCSGDNLGTYYVEWYQQKPGQAPVLVIYDDSDRPSGIPERF
SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCASFASWSDSVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS
SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DNLGTYYVE и *DEADYY* = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 257 и 255)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 10А Конструкция Fab IgG2 аскринвакумаб

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь акринвакумаба (SEQ ID NO: 37)
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGEYYWNWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESVAGFDYWGQGTLVTVSSAS
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVE +/- CPPCPA +/- P
PVAG
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь акринвакумаба (SEQ ID NO: 38)
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGTSSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
DTAVYY– Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 243)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
NA(S/T) = Консенсусное гликозилирование по аспарагину (N)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ERKCCVECPPCPAPPVAG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 220)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFAVYY= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 239)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 10B Конструкция Fab IgG1 тезидолумаба

Лидер: SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь тезидолумаба (SEQ ID NO: 39)
EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIGPFFGTANY
AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDTPYFDYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)
+/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь тезидолумаба (SEQ ID NO: 40)
SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDSIPNYYVYWYQQKPGQAPVLVIYDDSNRPSGIPER
FSGSNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCQSFDSSLNAEVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLF
PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN –Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG =Шарнирная область (SEQ ID NO: 210)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 211)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DSIPNY и YCQSFD и DEADYY= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 259, 260 и 255)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 10C Конструкция Fab IgG1 каротуксимаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь каротуксимаба (SEQ ID NO: 41)
EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRSKASNHAT
YYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTRWRRFFDSWGQGTTLTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)
+/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь каротуксимаба (SEQ ID NO: 42)
QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVR
FSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTGIYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 261)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDAATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 262)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 10D Конструкция Fab IgG2 равулизумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь равулизумаба (SEQ ID NO: 362)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNYWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEY
TENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARYFFGSSPWFAYWGQGTLVTV
SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVE +/- CPPCPA +/-
PPVAG
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь равулизумаба (SEQ ID NO: 363)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWYQQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY =Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ERKCCVECPPCPAPPVAG =Шарнирная область (SEQ ID NO: 220)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 11 Конструкция Fab IgG1 ANX-007

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь ANX-007 (SEQ ID NO: 43)
QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKSSGYHFTSYWMHWVKQAPGQGLEWIGVIHPNSGSINY
*NEKFES*RVTITVDKSTSTAYMELSSLRS*EDTAVYY*CAGERDSTEVLPMDYWGQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSNNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или K
THL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь ANX-007 (SEQ ID NO: 44)
DVQITQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISSLEP*EDFAMYY*CQQHNEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
YNEKFE и *EDTAVYY* = Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 263 и 236)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFAMYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 264)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 12A Конструкция Fab IgG1 адалимумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь адалимумаба (SEQ ID NO: 45):
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDY
ADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL) +/- CPPCPA
+/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь адалимумаба (SEQ ID NO: 46)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказано для адалимумаба)
FTFDDYA и *EDTAVYY* = Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 265 и 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказано для адалимумаба)
EDVATYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 253)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 12B Конструкция Fab IgG1 инфликсимаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь инфликсимаба (SEQ ID NO: 47):
EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSAT
HYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или KT
HL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь инфликсимаба (SEQ ID NO: 48)
DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPS
RFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказано для инфликсимаба)
EDTGVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 266)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты (предсказано для инфликсимаба)
EDIADYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 267)
NGS(T) = Консенсусный сайт гликозилирования
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 12C Конструкция Fab IgG1 голимумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь голимумаба (SEQ ID NO: 49)
SKLQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSN
KKYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWG
QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KT
KT (или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь инфликсимаба (SEQ ID NO: 50)
AGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATG
IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
YYYGMD и EDTAVYY= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 268 и 236)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFAVYY= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 239)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 13 Конструкция Fab IgG1 элезанумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь элезанумаба (SEQ ID NO: 51)
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSHGISWVRQAPGQGLDWMGWISPYSGNTNY
AQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVGSGPYYYMDVWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или KT
HD)+/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь элезанумаба (SEQ ID NO: 52)
QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSSVGDSIYVSWYQQHPGKAPKLMLYDVTKRPSGV
PDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCYSYAGTDTLFGGGTKVTVLGQPKAAPSVTL
FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSY
LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG –Шарнирная область (SEQ ID NO: 210)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGG =Шарнирная область (SEQ ID NO: 211)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDEADYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 245)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 14A Конструкция Fab IgG1 NI-301

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь NI-301 (SEQ ID NO: 53)
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCSVSGGSIISRSSYWGWIRQPPGKGLEWIGGIYHSGNTY
DNPSLKSRLTMSVDTSKNQFSLNLRSVTAADTAVYYCARIVPGGDAFDIWGQGTMVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или KT
HT)+/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь NI-301 (SEQ ID NO: 54)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTACRASQSVGTYLNWYQQKRGKAPKLLIFAASSLQSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
DTAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 243)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 14B Конструкция Fab PRX-004

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь PRX-004 (SEQ ID NO: 55)
EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISSGGST
YYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYYGQYFDFWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KT
HT (или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь PRX-004 (SEQ ID NO: 56)
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTTVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRSTG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQHYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 239)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 15 Конструкция Fab IgG1 памревлумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь памревлумаба (SEQ ID NO: 57)
EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIGPFFGTANY
AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDTPYFDYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)+
/- CPPCPA +/- PEAAGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь памревлумаба (SEQ ID NO: 58)
SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDSIPNYYVYWYQQKPGQAPVLVIYDDSNRPSGIPER
FSGSNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCQSFDSSLNAEVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLF
PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT– Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 210)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 211)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DSIPNY и *DEADYY* и *YCQSFD*= Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 259, 255 и 260)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16А Конструкция Fab IgG2 сатрализумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь сатрализумаба (SEQ ID NO: 59)
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGHSISHDHAWSWVRQPPGEGLEWIGFISYSGITNY
NPSLQGRVTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSLARTTAMDYWGEGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVE +/- CPPCPA +/- P
PVAG
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь сатрализумаба (SEQ ID NO: 60)
DIQMTQSPSSLSASVGDSVTITCQASTDISSHLNWYQQKPGKAPELLIYYGSHLLSGVPS
RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCGQGNRLPYTFGQGTKVEIERTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY и YTCNVD = Сайт Y-сульфатирования (SEO ID NO: 236)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ERKSCVECPPCPAPPVAG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 433)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
ELLIYY и EDAATYY – Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 269 и 262)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN =Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16B Конструкция Fab IgG1 сарилумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь сарилумаба (SEQ ID NO: 61)
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASRFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGY
ADSVKGRFTISRDNAENSLFLQMNGLRAEDTALYYCAKGRDSFDIWGQGTMVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)+
+/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь сарилумаба (SEQ ID NO: 62)
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLESGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFASYYCQQANSFPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
FTFDDYA и EDTALYY – Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 265 и 270)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFASYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 271)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16C Конструкция Fab IgG1 силтуксимаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь силтуксимаба (SEQ ID NO: 331)
EVQLVESGGKLLKPGGSLKLSCAASGFTFSSFAMSWFRQSPEKRLEWVAEISSGGSYTYY
PDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRS*EDTAMYY*CARGLWGYYALDYWGQGTSVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV*EPKSCD +/- KTHT (или KTH*
*C) +/- CPPCPA +/- PELLGG*PSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь сарилумаба (SEQ ID NO: 332)
QIVLIQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPGSSPRLLIYDTSNLASGVPVR
FSGSGSGTSYSLTISRMEA*EDAATYYC*QQWSGYPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAMYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 402)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG –Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDAATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 262)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16D Конструкция Fab IgG1 клазакизумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь калакизумаба (SEQ ID NO: 333)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYYVTWVRQAPGKGLEWVGIIYGSDETAYA
TSAIGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDDSSDWDAKFNLWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или KT
HT) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь калакизумаба (SEQ ID NO: 334)
AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSINNELSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYYCQQGYSLRNIDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS
TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG =Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 251)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16E Конструкция Fab IgG1 сирукумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь сирукумаба (SEQ ID NO: 335)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPFAMSWVRQAPGKGLEWVAKISPGGSWTYY
SDTVTGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLWGYYALDIWGQGTTVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или KCH
C) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь сирукумаба (SEQ ID NO: 336)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASISVSYMYWYQQKPGQAPRLLIYDMSNLASGIPAR
FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCMQWSGYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY =Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 239)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16F Конструкция Fab IgG4 олокизумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь олокизумаба (SEQ ID NO: 337)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFNDYFMNWVRQAPGKGLEWVAQMRNKNYQY
GTYYAESLEGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARESYYGFTSYWGQGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY +/- GPPCP
PCPA (или GPPCPSCPA) +/- PEFLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь олокизумаба (SEQ ID NO: 338)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIGISLSWYQQKPGKAPKLLIYNANNLADGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSAPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN =Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ESKYGPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 214)
или
ESKYGPPCPSCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 215)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16G Конструкция Fab IgG1 герилизумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь герилизумаба (SEQ ID NO: 339)
EVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSITSRYYAWSWIRQPPGKGLEWIGVIDYDG
DTYYSPSLKSRVSISWDTSKNQFSLKLSSVTPADTAVYYCARDPDVVTGFHYDYWGQ
GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
+/- KTHT (или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь герилизумаба (SEQ ID NO: 340)
QSALTQPPSVSGTPGQSVTISCAGANNDIGTYAYVSWYQQLPGTAPKLMIYKVTTRA
SGIPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCASYRNFNNAVFGTGTKLTVLGQPK
AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQ
SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
DTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEO ID NO: 243)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDEADYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 245)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16H Конструкция Fab IgG1 тоцилизумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь тоцилизумаба (SEQ ID NO: 341)
QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITT
YNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или
KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь тоцилизумаба (SEQ ID NO: 342)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS
TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
DTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 243)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDIATYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 403)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 16I Конструкция Fab IgG1 инебилизумаба (MEDI-551)

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь инебилизумаба (SEQ ID NO: 63)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSWMNWVRQAPGKGLEWVGRIYPGDGDTNY
NVKFKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARSGFITTVRDFDYWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD +/- KTHT (или K
THL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь инебилизумаба (SEQ ID NO: 64)
EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASESVDTFGISFMNWFQQKPDQSPKLLIHEASNQGS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQSKEVPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDAATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 262)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 17 Конструкция Fab IgG1 этролизумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь этролизумаба SEQ ID NO: 65)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFFITNNYWGWVRQAPGKGLEWVGYISYSGSTSYN
PSLKSRFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGSSGYFDFWGQGTLVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD +/- KTHT (или KTHL)
+/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь этролизумаба (SEQ ID NO: 66)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDDLLHWYQQKPGKAPKLLIKYASQSISGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGNSLPNTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DLLHWY и EDFATYY – Сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 272 и 242)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 18 Конструкция Fab IgG2 ромосозумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь ромосозумаба (SEQ ID NO: 67)
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNMHWVRQAPGQGLEWMGEINPNSGGAGY
NQKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRS*DDTAVYY*CARLGYDDIYDDWYFDVWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV*ERKCCVE* +/- *CPPCPA*
+/- PPVAG
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146)
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь ромосозумаба (SEQ ID NO: 68)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLLSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQP*EDFATYY*CQQGDTLPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
DDTAVYY= Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 273)
QGT– Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ERKCCVECPPCPAPPVAG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 220)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 19 Конструкция Fab IgG1 ланаделумаба

Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь ланаделумаба (SEQ ID NO: 69):
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV *EPKSCD +/- KTHT*
(или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер: (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь ланаделумаба (SEQ ID NO: 70):
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQP*DDFATYY*CQQYNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
или
EPKGCDKTHLCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 252)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 20A-20B

ФИГ. 20A Выравнивание CLUSTAL O (1.2.4) тяжелой цепи терапевтического Fab

```
Соланезумаб      ·EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRY--SMSWVRQAPGKGLELVAQINSV-  54
GSK933776         EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDN  GMAWVRQAPGKGLEWVSFISNL  54
AL-001            QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKY  YMSWVRQAPGQGLEWMGIINPI  54
ABBV-8E12        ·EVKVVESGGGLVQPGGSMKLSCVVSGFTFSNY--WVNWVRQAPGKGLEWVAQIRLKS  55
UCB-0107         ·EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTSND--IAWIRQPPGKGLEWMGTIWTDG  55
NI-105           ·QVQLVESGGGVVQPGRSLRVSCAASGFTFSSY--DMHWVRQAPGKGLEWVAVIWFD-  54
VX15/2503         QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFSDY  YMHWVRQAPGQGLEWMGQINPI  54
Празинезумаб     ·EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNY--GMSWVRQAPGKGLEWVASISSG-  54
NI-202           ·EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNY--AMIWVRQAPGQRLEWMGWINAG-  54
MEDI-1341         EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY  AMSWVRQAPGKGLEWVSSISHL  54
NI-204.10D12     ·EVQLVESGGDLVRPGGSLRLSCVASGFTFSNY--WMHWVRQAPGQRPVWVSRTNTD-  54
NI-204.12G7       QVQLVQSGAEVKKPGASVTLSCKASGYTFTAY  YIHWVRQAREQGLEWMGVINPS  54
Эптинезумаб      ·EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSGY--YMNWVRQAPGKGLEWVGVIGIN-  54
Фреманезумаб      EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNY  WISWVRQAPGKGLEWVAEIRSES  55
Галканезумаб     ·QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFGNY--WMQWVRQAPGQGLEWMGAIYEG-  54
Севацизумаб      ·EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFSFSNN-DVMCWVRQAPGKGLEWIGCIMTT-  55
LKA-651.NVS2     ·EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSY--WIGWVRQMPGKGLEWMGWIDPY-  54
LKA-651.NVS3      QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNTAAWNWIRQSPSRGLEWLGVIYYRS  57
Аскринвакумаб    ·QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGEYYWNWIRQHPGKGLEWIGYIYYSG  57
Тезидолумаб      ·EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSY--AISWVRQAPGQGLEWMGGIGPF-  54
Каротуксимаб      EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDA  WMDWVRQSPEKGLEWVAEIRSKA  55
ANX-007          ·QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKSSGYIFTSY--WMHWVKQAPGQGLEWIGVIHPN-  54
Адалимумаб        EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDY  AMHWVRQAPGKGLEWVSAITWN  54
Инфликсимаб      ·EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNH--WMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSKS  55
Голимумаб        QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSY  AMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYD  57
Элезанумаб       ·EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSH--GISWVRQAPGQGLDWMGWISPY-  54
NI-301           ·QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCSVSGGSIISRSSYWGWIRQPPGKGLEWIGGIYHSG  57
PRX-004          ·EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSNY--AMSWVRQAPGKGLEWVSSISS--  53
Памревлумаб       EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSY  AISWVRQAPGQGLEWMGGIGPF  54
Сатрализумаб      QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGHSISH DHAWSWVRQPPGEGLEWIGFISYSG  56
Сарилумаб        ·EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASRFTFDDY--AMHWVRQAPGKGLEWVSGISWN-  54
Инебилизумаб     ·EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSS--WMNWVRQAPGKGLEWVGRIYPG-  54
Этролизумаб       EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFFITNN  YWGWVRQAPGKGLEWVGYISYS  54
Ромосозумаб      ·EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY--NMIWVRQAPGQGLEWMGEINPN-  54
Ланаделумаб       EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHY  IMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSS  54
Силтуксимаб         EVQLVESGGKLLKPGGSLKLSCAASGFTFSSF  AMSWFRQSPEKRLEWVAEISSG 54
Клазакизумаб      EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNY  YVTWVRQAPGKGLEWVGIIYGS  54
Сирукумаб        ·EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPF--AMSWVRQAPGKGLEWVAKISPG-  54
Олокизумаб       ·EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFNDY--FMNWVRQAPGKGLEWVAQMRNKN 55
Герилизумаб      ·EVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSITSRYYAWSWIRQPPGKGLEWIGVIDY-- 55
Тоцилизумаб       QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITS DHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSG 57
Лакенемаб        ·EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFSSF--GMHWVRQAPGKGLEWVAYISSGS 55
Равулизумаб      ·QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNY--WIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGS 55
Бенрализумаб     ·EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY--VIHWVRQRPGQGLAWMGYINPYN 55
Реслизумаб        EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLSLTSN  SVNWIRQAPGKGLEWVGLIWSNG 55
Тралокинумаб     ·QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNY--GLSWVRQAPGQGLEWMGWISANN 55
Немолизумаб       QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGY  IMNWVRQAPGQGLEWMGLINPYN 55
Омализумаб        EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSGY SWNWIRQAPGKGLEWVASITYDG 56
Тезепелумаб      ·QMQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFRTY--GMIWVRQAPGKGLEWVAVIWYDG 55
```

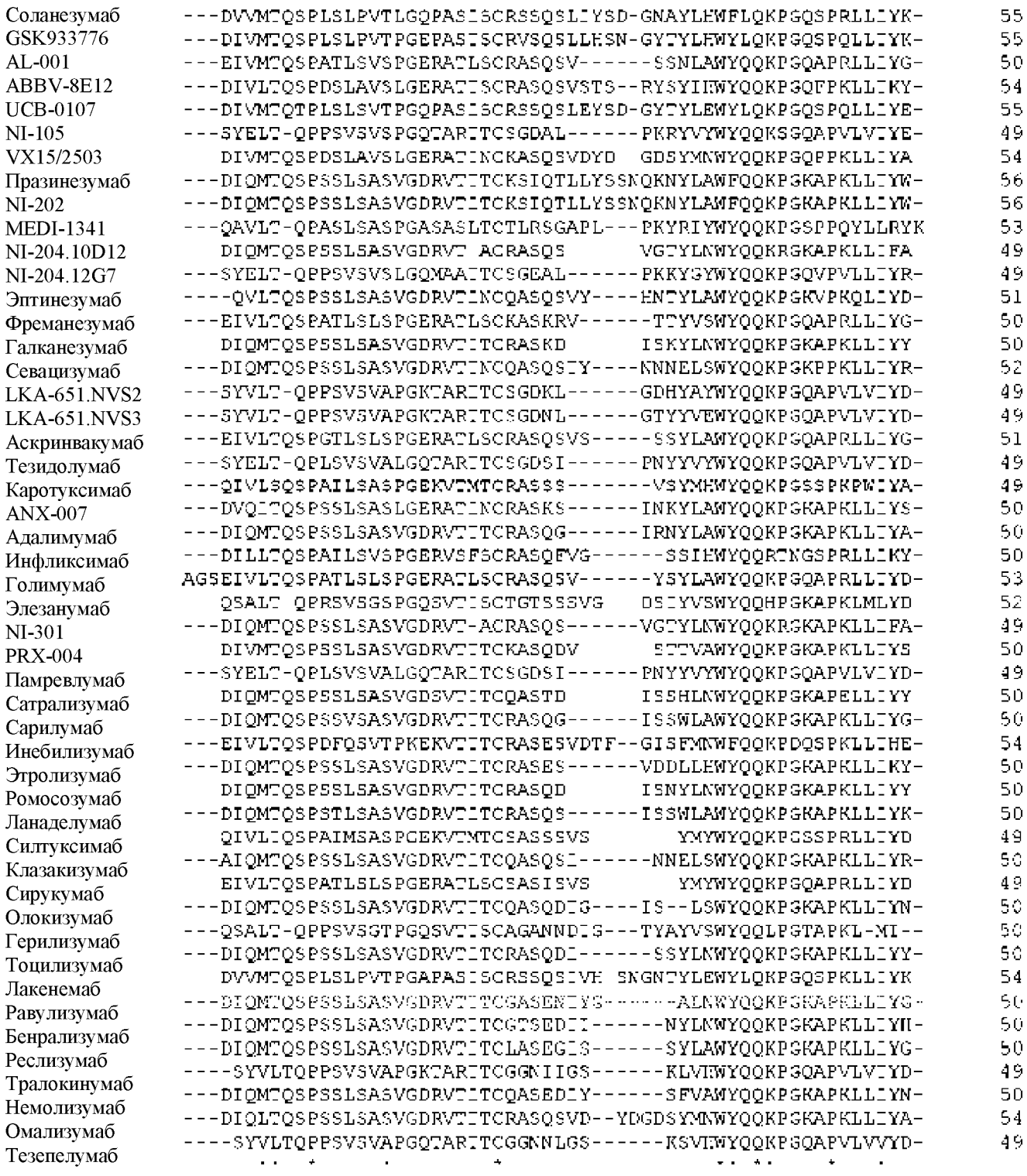
```
Соланезумаб      -GNSTYYPDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASG-------------      99
GSK933776         AYSIDYADTVTGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVSGTW                101
AL-001           -GGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDPSGIALAGPASRGY   113
ABBV-8E12        DNYATHYEESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDSGIYYCTN---------------   100
UCB-0107         S TN  YNAAVQSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHRLYY   G         103
NI-105            GSNEFYADSVKGRFTISRDNSKNTLF QMNSLRAEDTAVYYCARDLGAS   VT TSNA   108
VX15/2503        TGGASYNQKFKGKATITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARY-YY----------G    102
Празинезумаб     -GGSTYYPDNVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARG-------------G   100
NI-202           -NGKRKYSQKFQDRVTINRDTSASTIYMELSSLGSEDTAVYYCAREEDHA-----GSGSY   108
MEDI-1341        -GGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGANH-------GKYY   106
NI-204.10D12     -GRNTAYADYAKGRFTISRDNAKSTLYLQLNSLRAEDTAVYFCARLRRNV---ADQTHN   110
NI-204.12G7      -TGTTFYAQNFPDRVSVTRDTSTSTVFMELHNLKSEDTAVYYCARAISER-----GSGSY   108
Эптинезумаб       GATYYASWAKGRFTISRDNSKTTVYLQMNSLRAEDTAVYFCARG                  98
Фреманезумаб     DASATHYAEAVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCLAYFDY          GL   106
Галканезумаб     -TGKTVYTQKFADRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLSDY----------V   103
Севацизумаб      -DVVTEYANWAKSRFTVSRDSAKNSVYLQMNSLRAEDTAVYFCARDSVGS--------PL   106
LKA-651.NVS2     -RSEIRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVSSE----------   102
LKA-651.NVS3     R-WYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARSVPGG---DPGL--E   111
Аскринвакумаб    S TY  YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESV     A        103
Тезидолумаб       FGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDTP               101
Каротуксимаб     SNHATYYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTR--WR----------   102
ANX-007           SGSINYNEKFESRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGERDST        EV   105
Адалимумаб       -SGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLS---TA-----   105
Инфликсимаб      INSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYG----------   104
Голимумаб         GSNKKYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIA   AGGNYYY   113
Элезанумаб       -SGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVGSG---------PY   104
NI-301           N-TY--DNPSLKSRLTMSVDTSKNQFSLNLRSVTAADTAVYYCARIVPGG---D------   105
PRX-004           GGSTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYY           G   101
Памревлумаб       FGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDTP               101
Сатрализумаб     I-TN--YNPSLQGRVTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSLART---T------   104
Сарилумаб        -SGRIGYADSVKGRFTISRDNAENSLFLQMNGLRAEDTALYYCAKG--------R-----   100
Инебилизумаб     -DGDTNYNVKFKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARSGFI-------YTV-   105
Этролизумаб      --GSTSYNPSLKSRFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGSS-------G---   102
Ромосозумаб      -SGGAGYNQKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARLGYDDIY------DD   107
Ланаделумаб       GGTTVYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIG        VPRR   106
Силтуксимаб         GSYTYYPDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRSEDTAMYYCARGLWGY           103
Клазакизумаб     --DETAYATSAIGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDDSSDWD--------   104
Сирукумаб        -GSWTYYSDTVTGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLWGY----------   103
Олокизумаб       YQYGTYYAESLEGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARESYY----------   104
Герилизумаб      -DGDTYYSPSLKSRVSISWDTSKNQFSLKLSSVTPADTAVYYCARDPDVVTG--------   106
Тоцилизумаб      ---LTTYNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLART----------   104
Лакенемаб          STIYYGDTVKGRFTISRDNAKNSLFLQMSSLRAEDTAVYYCAREGGYYYGRSYY       103
Равулизумаб      --GHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARYFFGSSPN------   106
Бенрализумаб       DGTKYNERFKGKVTITSDRSTSTVYMELSSLRSEDTAVYLCGREGIRYYG          105
Реслизумаб     --DT-TYNSAIKSRFTISRDTSKSTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARE--Y-YG--Y-----   102
Тралокинумаб     -GDT-NYGQEFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDSSSSWA--R-----   106
Немолизумаб       GGTD YNPQFQDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGYDDG   P       105
Омализумаб       --ST-NYADSVKGRFTISRDDSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSHY-FG--H-----   105
Тезепелумаб      --SNKIYADSVKGRFTITRDNSKNTLNLQMNSLRAEDTAVYYCARAPQWELV--H-----   106
                              . ..  * .       .    .   ** .*.*
```

```
Соланезумаб       DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   156
GSK933776      --FAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   159
AL-001         QGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   173
ABBV-8E12      -WEDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   159
UCB-0107        AFDYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   162
NI-105         ENFHHWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   168
VX15/2503      RHFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   162
Празинезумаб   AGIDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   160
NI-202         LSMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   168
MEDI-1341      YGMDKWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   166
NI-204.10D12   YYMDVWGKGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   170
NI-204.12G7    -SPYYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   167
Эптинезумаб    ---DIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   155
Фреманезумаб   AIQNYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   166
Галканезумаб   SGFGYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   163
Севацизумаб    MSFDLWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   166
LKA-651.NVS2    PFDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   161
LKA-651.NVS3   EAFAYWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   171
Аскринвакумаб   GFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   162
Тезидолумаб    -YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   160
Каротуксимаб   REFDSWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   162
ANX-007        LPMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   165
Адалимумаб     SSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   165
Инфликсимаб    STYDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   164
Голимумаб      YGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   173
Элезанумаб     YYMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   164
NI-301         -AFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   164
PRX-004        QYFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   161
Памревлумаб    -YFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   160
Сатрализумаб   -AMDYWGEGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   163
Сарилумаб      DSFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   160
Инебилизумаб   RDFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   165
Этролизумаб    -YFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   161
Ромосозумаб    WYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   167
Ланаделумаб    DEFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   166
Силтуксимаб    YALDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   163
Клазакизумаб   AKFNLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   164
Сирукумаб      YALDIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   163
Олокизумаб     GFTSYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   164
Герилизумаб    EIIYDYWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   166
Тоцилизумаб    TAMDYWGQGSLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   164
Лакенемаб      -TMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   168
Равулизумаб    WYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   166
Бенрализумаб   LLGDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   165
Реслизумаб     --FDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   160
Тралокинумаб   WFFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   166
Немолизумаб    YTLETWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   165
Омализумаб     WHFAVWGQGTLVTVS----SGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   161
Тезепелумаб    EAFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG   166
                    ** ** :*****************.*:*** .**********************
```

```
Соланезумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   211
GSK933776       ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   214
AL-001          ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   228
ABBV-8E12       ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE   214
UCB-0107        ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE   217
NI-105          ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   223
VX15/2503       ALTSGVHTFPAVTVSSVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE   222
Празинезумаб    ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   215
NI-202          ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   223
MEDI-1341       ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   221
NI-204.10D12    ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   225
NI-204.12G7     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   222
Эптинезумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDARVE   210
Фреманезумаб    ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE   221
Галканезумаб    ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE   218
Севацизумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   221
LKA-651.NVS2    ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   216
LKA-651.NVS3    ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   226
Аскринвакумаб   ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE   217
Тезидолумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   215
Каротуксимаб    ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   217
ANX-007         ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   220
Адалимумаб      ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   220
Инфликсимаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   219
Голимумаб       ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   228
Элезанумаб      ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   219
NI-301          ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   219
PRX-004         ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   216
Памревлумаб     ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   215
Сатрализумаб    ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE   218
Сарилумаб       ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   215
Инебилизумаб    ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   220
Этролизумаб     ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   216
Ромосозумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE   222
Ланаделумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   221
Силтуксимаб     ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   218
Клазакизумаб    ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   219
Сирукумаб       ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE   218
Олокизумаб      ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   219
Герилизумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   221
Тоцилизумаб     ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   219
Лакенемаб       ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE   223
Равулизумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE   221
Бенрализумаб    ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE   220
Реслизумаб      ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE   215
Тралокинумаб    ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE   220
Немолизумаб     ALTSGVHTFPAV     LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE   220
Омализумаб      ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAE   216
Тезепелумаб     ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE   221
                ************     ********************.:**:** ***:**********  **
```

Соланезумаб	PKSCDKTHT	220
GSK933776	PKSCDKTHT	223
AL-001	PKSCDKTHT	237
ABBV-8E12	SKYGPP---	220
UCB-0107	SKYGPP---	223
NI-105	PKSCDKTHT	232
VX15/2503	SKYGPP	228
Празинезумаб	PKSCDKTHT	224
NI-202	PKSCDKTHT	232
MEDI-1341	PKSCDKTHT	230
NI-204.10D12	PKSCDKTHT	234
NI-204.12G7	PKSCDKTHT	231
Эптинезумаб	PKSCDKTHT	219
Фреманезумаб	RKCCVE---	227
Галканезумаб	SKYGPP---	224
Севацизумаб	PKSCDKTHT	230
LKA-651.NVS2	PKSCDKTHT	225
LKA-651.NVS3	PKSCDKTHT	235
Аскринвакумаб	RKCCVE	223
Тезидолумаб	PKSCDKTHT	224
Каротуксимаб	PKSCDKTHT	226
ANX-007	PKSCDKTHT	229
Адалимумаб	PKSCDKTHT	229
Инфликсимаб	PKSCDKTHT	228
Голимумаб	PKSCDKTHT	237
Элезанумаб	PKSCDKTHT	228
NI-301	PKSCDKTHT	228
PRX-004	PKSCDKTHT	225
Памревлумаб	PKSCDKTHT	224
Сатрализумаб	RKSCVE---	224
Сарилумаб	PKSCDKTHT	224
Инебилизумаб	PKSCDKTHT	229
Этролизумаб	PKSCDKTHT	225
Ромосозумаб	RKCCVE---	228
Ланаделумаб	PKSCDKTHT	230
Силтуксимаб	PKSCDKTHT	227
Клазакизумаб	PKSCDKTHT	228
Сирукумаб	PKSCDKTHT	227
Олокизумаб	SKYGPP---	224
Герилизумаб	PKSCDKTHT	230
Тоцилизумаб	PKSCDKTHT	228
Лакенемаб	PKSCDKTHT	232
Равулизумаб	RKCCVE	227
Бенрализумаб	PKSCDKTHT	229
Реслизумаб	SKYGPP---	221
Тралокинумаб	SKYGPP---	226
Немолизумаб	RKSCVE---	226
Омализумаб	PKSCDKTHT	225
Тезепелумаб	RKCCVE---	227

ФИГ. 20B Выравнивание CLUSTAL O (1.2.4) легкой цепи терапевтического Fab



```
Соланезумаб     ---VSNRFSGVPDRFSGSGS--GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTH----VPWTFGQG   106
GSK933776          VSNRFSGVPDRFSGSGS  GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQTRH    VPYTFGGG   106
AL-001          ---ASTRATGIPARFSGSGS--GTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQA-RL---GPWTFGGG   101
ABBV-8E12       ---ASNLESGVPSRFSGSGS--GTDFTLNIHPLEPEDFATYYCHHSWE----IPLTFGQG   105
UCB-0107        ---VSNRFSGVPDRFSGSGS--GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQATH----NPYTFGQG   106
NI-105             DSKRPSGIPETFSGSSS  GTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDS  NGEHWVFGGG   102
VX15/2503       ---ASNLESGVPDRFSGSGS--GTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNE----DPYTFGQG   105
Празинезумаб    ---ASIRKSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDLATYYCQQY-YS---YPLTFGGG   107
NI-202          ---ASIRKSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDLATYYCQQY-YS---YPLTFGGG   107
MEDI-1341       SDADKNQGSGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMVWD----NGVWVFGGG   109
NI-204.10D12    ---ASSLQSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS-YS---SPPTFGQG   100
NI-204.12G7     ---DVERPSGVPDRFSGSSS--GTMVTLTISGVQAEDEADYYCLSADS--S-GTWVFGGG   101
Эптинезумаб     ---ASTLASGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGSYDCTNGDCFVFGGG   106
Фреманезумаб    ---ASNRYLGIPARFSGSGS--GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCSQSYNY----PYTFGQG   101
Галканезумаб    ---TSGYHSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQG-DA---LPPTFGGG   101
Севацизумаб     ---ASTLASGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDVATYYCGG-YKSYSNDGNGFGGG   106
LKA-651.NVS2    ---DSKRPSGIPERFSGSNS--GNTATLTISRVEAGDEADYYCAIWTF--E-GDYVFGGG   101
LKA-651.NVS3    ---DSDRPSGIPERFSGSNS--GNTATLTISRVEAGDEADYYCASFAS--W-SDSVFGGG   101
Аскринвакумаб   ---TSSPATGIPDRFSGSGS--GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQ-YGS---SPITFGQG   102
Тезидолумаб     ---DSNRPSGIPERFSGSNS--GNTATLTISRAQAGDEADYYCQSFDS--SLNAEVFGGG   102
Каротуксимаб       TSNLASGVPVRFSGSGS  GTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWSS    NPLTFGAG   100
ANX-007            GSTLQSGIPARFSGSGS  GTDFTLTISSLEPEDFAMYYCQQH NE   YPLTFGQG   101
Адалимумаб         ASTLQSGVPSRFSGSGS  GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRY NR   APYTFGQG   101
Инфликсимаб     ---ASESMSGIPSRFSGSGS--GTDFTLSINTVESEDIADYYCQQSHS----WPFTFGSG   101
Голимумаб          ASNRATGIPARFSGSGS  GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNW   PPFTFGPG   105
Элезанумаб      ---VTKRPSGVPDRFSGSKS--GNTASLTISGLQAEDEADYYCYSYA----GTDTLFGGG   103
NI-301          ---ASSLQSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS-YS---SPPTFGQG   100
PRX-004         ---ASYRSTGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQHYS----TPLTFGGG   101
                   DSNRPSGIPERFSGSNS  GNTATLTISRAQAGDEADYYCQSFDS  SLNAEVFGGG   102
Памревлумаб     ---GSNLLSGVPSRFSGSGS--GTDFTFTISSLEAEDAATYYCGQG-NR---LPYTFGQG   101
Сатрализумаб    ---ASSLESGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFASYYCQQA-NS---FPYTFGQG   101
Сарилумаб       ---ASNQGSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQSKE----VPFTFGGG   105
Инебилизумаб       ASQSISGVPSRFSGSGS  GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQG NS   LPNTFGQG   101
Этролизумаб     ---TSRLLSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQG-DT---LPYTFGGG   101
Ромосозумаб        ASTLESGVPSRFSGSGS  GTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQY NT   Y WTFGQG   100
Ланаделумаб     ---TSNLASGVPVRFSGSGS--GTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQWSG----YPYTFGGG   100
Силтуксимаб     ---ASTLASGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPDDFATYYCQQGYSLR-NIDNAFGGG   104
Клазакизумаб    ---MSNLASGIPARFSGSGS--GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCMQWSG----YPYTFGGG   100
Сирукумаб       ---AKNLADGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQH-NS---APYTFGQG   101
Олокизумаб      ---YKVTTRASGIPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCASYRNF---NNAVFGTG   104
Герилизумаб     ---TSRLHSGVPSRFSGSGS--GTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQG-NT---LPYTFGQG   101
Тоцилизумаб     ---VSNRFSGVPDRFSGSGS--GTDFTLRISRVEAEDVGTYYCFQGSH----VPRTFGPG   105
Лакенемаб       ---ATNLADGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNVLN---T-PLTFGQG   101
Равулизумаб     ---TSRLQSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGY----TLPYTFGQG   101
Бенрализумаб    ---ANSLQTGVPSRFSGSGS--ATDYTLTISSLQPEDFATYYCQQS----YKFPNTFGQG   101
Реслизумаб      ---DGDRPSGIPERFSGSNS--GNTATLTISRVEAGDEADYYCQVW-DT-GSDPVVFGGG   102
Тралокинумаб    ---AQTEAQGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHK----Y-DSPLTFGG   100
Немолизумаб     ---ASYLESGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHE----DPYTFGQG   105
Омализумаб         DSDRPSWIPERFSGSNS  GNTATLTISRGEAGDEADYYCQVWDSSS  DHVVFGGG   102
Тезепелумаб              *:*  **** .  ..  : *  ;  * . ***            ** *
```

		S/N
Соланезумаб	TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	165
GSK933776	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	165
AL-001	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
ABBV-8E12	TKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	164
UCB-0107	TKLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	165
NI-105	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	161
VX15/2503	TKLEIK---------FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	156
Празинезумаб	TKLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	166
NI-202	TKLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	166
MEDI-1341	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	168
NI-204.10D12	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
NI-204.12G7	TKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGV-	160
Эптинезумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	165
Фреманезумаб	TKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Галканезумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Севацизумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	165
LKA-651.NVS2	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	160
LKA-651.NVS3	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	160
Аскринвакумаб	TRLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	161
Тезидолумаб	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV	161
Каротуксимаб	TKLELK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
ANX-007	TKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Адалимумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Инфликсимаб	TNLEVK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Голимумаб	TKVDIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	164
Элезанумаб	TKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	162
NI-301	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
PRX-004	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Памревлумаб	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV	161
Сатрализумаб	TKVEIE-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Сарилумаб	TKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Инебилизумаб	TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	164
Этролизумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Ромосозумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Ланаделумаб	TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
Силтуксимаб	TKLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
Клазакизумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	164
Сирукумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
Олокизумаб	TKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Герилизумаб	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	163
Тоцилизумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Лакенемаб	TKLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	165
Равулизумаб	TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Бенрализумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Реслизумаб	TKVEVK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Тралокинумаб	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	161
Немолизумаб	TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
Омализумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	164
Тезепелумаб	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	161

```
                                                                N
Соланезумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     219
GSK933776       ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    219
AL-001          ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     214
ABBV-8E12       ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    218
UCB-0107        ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     219
NI-105          ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS--TVEKTVAPTECS-    213
VX15/2503       ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    210
Празинезумаб    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    220
NI-202          ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    220
MEDI-1341       ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS--TVEKTVAPTECS    221
NI-204.10D12    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    213
NI-204.12G7     ETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS  TVEKTVAPTECS    213
Эптинезумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    219
Фреманезумаб    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    214
Галканезумаб    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    214
Севацизумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     219
LKA-651.NVS2    ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS  TVEKTVAPTECS    213
LKA-651.NVS3    ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS  TVEKTVAPTECS    213
Аскринвакумаб   ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    215
Тезидолумаб     ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS--TVEKTVAPTECS    214
Каротуксимаб    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    213
ANX-007         ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    214
Адалимумаб      ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     214
Инфликсимаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     214
Голимумаб       ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    218
Элезанумаб      ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS  TVEKTVAPTECS    215
NI-301          ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     213
PRX-004         ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    219
Памревлумаб     ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS--TVEKTVAPTECS    214
Сатрализумаб    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     214
Сарилумаб       ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     214
Инебилизумаб    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    218
Этролизумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     214
Ромосозумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    214
Ланаделумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     213
Силтуксимаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    21
Клазакизумаб    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    21
Сирукумаб       ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    21
Олокизумаб      ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     21
Герилизумаб     ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS--TVEKTVAPTECS    21
Тоцилизумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC     21
Лакенемаб       ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    219
Равулизумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    21
Бенрализумаб    ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    214
Реслизумаб      ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    214
Тралокинумаб    ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS     214
Немолизумаб     ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-    213
Омализумаб      ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR----    215
Тезепелумаб     ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS      214
```

ФИГ. 21

```
        VP1(1-736)→
AAV1    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
AAV2    MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
AAV3-3  MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGVPQPKANQQHQDNRRGLVLPGYKYLGPGNGLD 60
AAV4-4  -MTDGYLPDWLEDNLSEGVREWWALQPGAPKPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPGNGLD 59
AV5     MSFVDHPPDWLEE-VGEGLREFLGLEAGPPKPKPNQQHQDQARGLVLPGYNYLGPGNGLD 59
AAV6    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
AAV7    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDNGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
AAV8    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60
hu31    MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPGNGLD 60
hu32    MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPGNGLD 60
AAV9    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWALKPGAPQPKANQQHQDNARGLVLPGYKYLGPGNGLD 60
rh10    MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFNGLD 60

SUBS    -STVDHP-----ETVG--V-QFLK-QA-P-K--PAERKK-DG--------N----F----
         MF               L    D E  V P         QS
                              G      Q          R

AAV1    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV2    KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV3-3  KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV4-4  KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQQRLQGDTSFGGNLGRAVFQ 119
AV5     RGEPVNRADEVAREHDISYNEQLEAGDNPYLKYNHADAEFQEKLADDTSFGGNLGKAVFQ 119
AAV6    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV7    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV8    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120
hu31    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ 120
hu32    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ 120
AAV9    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ 120
rh10    KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ 120

SUBS    R-----E--EV-R---IS-NE--DS------R---------QK-QD---------K----
              R             R  E                    AG
                               Q

                          VP2(138)→ --HVR1--
AAV1    AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS 179
AAV2    AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPV-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA 179
AAV3-3  AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKGAVDQSPQ-EPDSSSGVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS 179
AAV4-4  AKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKRPLIESPQ-QPDSSTGIGKKGKQPAKKKLVFEDETGA 178
AV5     AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPTGKRIDDHFP----------KRKKARTEEDSKPSTSSDA 168
AAV6    AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS 179
AAV7    AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPAKKRPVEPSPQRSPDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS 180
AAV8    AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRSPDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS 180
hu31    AKKRLLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSAGIGKSGSQPAKKKLNFGQTGDT 179
hu32    AKKRLLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSAGIGKSGSQPAKKKLNFGQTGDT 179
AAV9    AKKRLLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDT 179
rh.10   AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRSPDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDS 180

SUBS    ----V---F----QGGE---TG-GIDDHF-V-S----S-T--KKQARTREKSVPEDETGA
            I         PV    A   ALIP    Q    T V  T K   E D K STSS S
                                 E             A S
                                               R A
```

ФИГ. 21 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```
          -HVR2-                  VP3203→
AAV1   ESVPD-PQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR 238
AAV2   DSVPD-PQPLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDR 238
AAV3-3 ESVPD-PQPLGEPPAAPTSLGSNTMASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSQWLGDR 238
AAV4-4 GDGP----PEGSTSGAMS--DDSEMRAAAGGAAVEGGQGADGVGNASGDWHCDSTWSEGH 232
AV5    EAGPSGSQQLQIPAQPASSLGADTMSAGGGGPLGDNNQGADGVGNASGDWHCDSTWMGDR 228
AAV6   ESVPD-PQPLGEPPATPAAVGPTTMASGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR 238
AAV7   ESVPD-PQPLGEPPAAPSSVGSGTVAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR 239
AAV8   ESVPD-PQPLGEPPAAPSGVGPNTMAAGGGAPMADNNEGADGVGSSSGNWHCDSTWLGDR 239
hu31   ESVPD-PQPIGEPPAAPSGVGSLTMASGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDR 238
hu32   ESVPD-PQPIGEPPAAPSGVGSLTMASGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDR 238
AAV9   ESVPD-PQPIGEPPAAPSGVGSLTMASGGGAPVADNNEGADGVGSSSGNWHCDSQWLGDR 238
rh10   ESVPD-PQPIGEPPAGPSGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGSSSGNWHCDSTWLGDR 239
SUBS   GDG-S-S-QLQQTSGTMASLDPNEVRAAA-GAMGEGGQ------NA--D-----T-MEGH
       DA       E S AQPATA  AG  ST S   LV                      S
                  I      -- DT         A
                            TD
                             S

                                    HVR3
AAV1   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQIS-SASTGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 297
AAV2   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQIS--SQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 296
AAV3-3 VITTSTRTWALPTYNNHLYKQIS--SQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 296
AAV4-4 VTTTSTRTWVLPTYNNHLYKRLG-----ESLQSNTYNGFSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 287
AV5    VVTKSTRTWVLPSYNNHQYREIKS-GSVDGSNANAYFGYSTPWGYFDFNRFHSHWSPRDW 287
AAV6   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 297
AAV7   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISS-ETAGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 298
AAV8   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGATNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 299
hu31   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 298
hu32   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 298
AAV9   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 298
rh10   VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW 299
SUBS   -T-K-----V--S----Q-RRLGSGSQSDATQA-T-----------------S-W-----
        V                  E K AATTEGL S H
                              G V
                              E A

AAV1   QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDSEYQLPYVLGS 357
AAV2   QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS 356
AAV3-3 QRLINNNWGFRPKKLSFKLFNIQVRGVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS 356
AAV4-4 QRLINNNWGMRPKAMRVKIFNIQVKEVTTSNGETTVANNLTSTVQIFADSSYELPYVMDA 347
AV5    QRLINNYWGFRPRSLRVKIFNIQVKEVTVQDSTTTIANNLTSTVQVFTDDDYQLPYVVGN 347
AAV6   QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDSEYQLPYVLGS 357
AAV7   QRLINNNWGFRPKKLRFKLFNIQVKEVTTNDGVTTIANNLTSTIQVFSDSEYQLPYVLGS 358
AAV8   QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNEGTKTIANNLTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS 359
hu31   QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQVFTDSDYQLPYVLGS 358
hu32   QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQVFTDSDYQLPYVLGS 358
AAV9   QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTDNNGVKTIANNLTSTVQVFTDSDYQLPYVLGS 358
rh10   QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNEGTKTIANNLTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS 359
SUBS   ---------M--RAMRV-I---------VQDSTT---------I-I-S-DE-E----MDA
                     K S             QSE E              A  S
                     S
```

ФИГ. 21 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```
                                  HVR4
AAV1    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY 414
AAV2    AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY 413
AAV3-3  AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY 413
AAV4-4  GQEGSLPPFPNDVFMVPQYGYCGLVTGNTSQQQTDRNAFYCLEYFPSQMLRTGNNFEITY 407
AV5     GTEGCLPAFPPQVFTLPQYGYATLNRD-NTENPTERSSFFCLEYFPSKMLRTGNNFEFTY 406
AAV6    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY 414
AAV7    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQSVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY 415
AAV8    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFTY 416
hu31    AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDG---GQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY 415
hu32    AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY 415
AAV9    AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY 415
rh10    AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY 416
SUBS    GQQ-S--A--PQ--TL-----CG-VND---GNPTD-NA-F---------------EIT-
         T        N    V     A   T    Q Q E                    T
                                  R    E S

                                                  ---------HVR5----------
AAV1    TFEEVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-NQSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV 473
AAV2    TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTN-TPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRD 472
AAV3-3  TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQGTTSGTTNQSRLLFSQAGPQSMSL 473
AAV4-4  SFEKVPFHSMYAHSQSLDRLMNPLIDQYLWGLQSTTTGTTLNAGTATTNFTKLRPTNFSN 467
AV5     NFEEVPFHSSFAPSQNLFKLANPLVDQYLYRFVSTN-------NTGGVQFNKNLAGRYAN 459
AAV6    TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-NQSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV 473
AAV7    SFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLARTQSNPGGTAGNRELQFYQGGPSTMAE 475
AAV8    TFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQT-TGGTANTQTLGFSQGGPNTMAN 475
hu31    EFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTINGSG--QNQQTLKFSVAGPSNMAV 473
hu32    EFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTINGSG--QNQQTLKFSVAGPSNMAV 473
AAV9    EFENVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTINGSG--QNQQTLKFSVAGPSNMAV 473
rh10    QFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQSTGG-TAGTQQLLFSQAGPNNMSA 475
SUBS    T--D-----MF---------A---V----WGFNR-QTNTS--AGTKRTQ-TQGSAATFSN
        S  E                          QS NSTPT  TQNSDVN NKNL QGYRD
        N  K                          V  TG Q    T AE L YRLR TRI L
                                      A            RG G       GS  E
                                                               ND

        --                -HVR6-         -HVR7-          ---HVR8--
AAV1    QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-----NNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASHK 528
AAV2    QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADN-----NNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVNPGPAMASHK 527
AAV3-3  QARNWLPGPCYRQQRLSKTANDN-----NNSNFPWTAASKYHLNGRDSLVNPGPAMASHK 528
AAV4-4  FKKNWLPGPSIKQQGFSKTANQNYKIPATGSDSLIKYETHSTLDGRWSALTPGPPMATAG 527
AV5     TYKNWFPGPMGRTQGWNLGSGVN-----RASVSAFATTNRMELEGASYQVPPQPNGMTNN 514
AAV6    QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDN-----NNSNFTWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASHK 528
AAV7    QAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQN-----NNSNFAWTGATKYHLNGRNSLVNPGVAMATHK 530
AAV8    QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQN-----NNSNFAWTAGTKYHLNGRNSLANPGIAMATHK 530
hu31    QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQN-----NNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNPGPAMASHK 528
hu32    QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQN-----NNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNPGPAMASHK 528
AAV9    QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQN-----NNSEFAWPGASSWALNGRNSLMNPGPAMASHK 528
rh10    QAKNWLPGPCYRQQRVSTTLSQN-----NNSNFAWTGATKYHLNGRDSLVNPGVAMATHK 530
SUBS    FAK-WL---CIKT-GWNLGSGV------TG-DSLIKYETHST-D-ASYQVP-QTPGMTAG
        TP   F   MG    F K AND      RA NYTFATTNRME E  D ALT  VN   NN
         K       F    L   KA          V P TAG KYN    W II   I
         Y                LD            S       H    E  A
         S                T
```

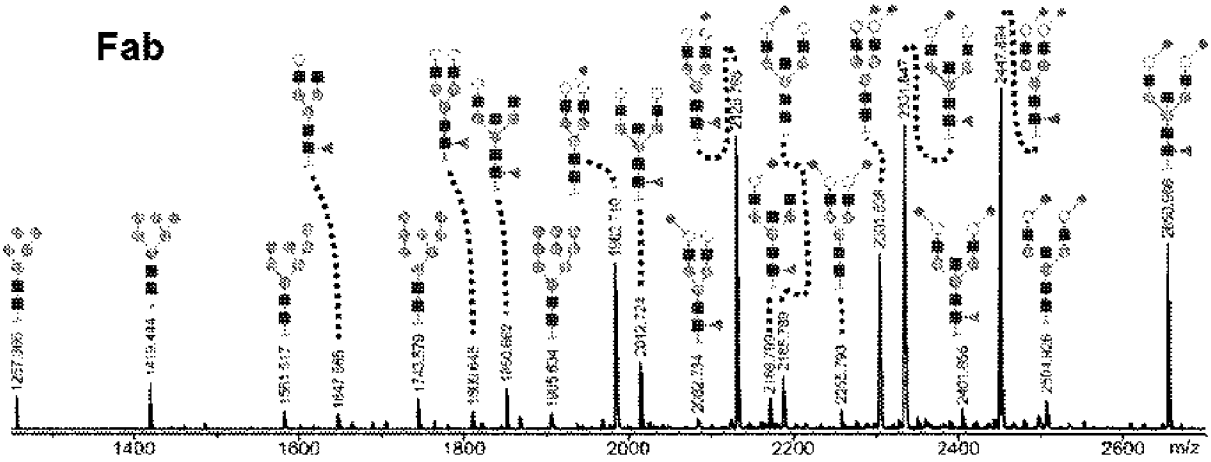
ФИГ. 21 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

```
           ----------HVR9-----------                                ----
AAV1   DDEDKFFPMSGVMIFGKESA--GASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNFQ 585
AAV2   DDEEKFFPQSGVLIFGKQGS--EKTNVDIE-KVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQ 584
AAV3-3 DDEEKFFPMHGNLIFGKEGT--TASNAELD-NVMITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANNLQ 585
AAV4-4 PADSKFS-NSQLIFAGPKQN--GNTATVPG-TLIFTSEEELAATNATDTDMWGNLPGGDQ 583
AV5    LQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLEGNMLITSESETQPVNRVAYNVGGQMATNNQ 574
AAV6   DDKDKFFPMSGVMIFGKESA--GASNTALD-NVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVNLQ 585
AAV7   DDEDRFFPSSGVLIFGKTGA--TN-KTTLE-NVLMTNEEEIRPTNPVATEEYGIVSSNLQ 586
AAV8   DDEERFFPSNGILIFGKQNA--ARDNADYS-DVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGIVADNLQ 587
hu31   EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT--GRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYGQVATNHQ 585
hu32   EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT--GRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYGQVATNHQ 585
AAV9   EGEDRFFPLSGSLIFGKQGT--GRDNVDAD-KVMITNEEEIKTTNPVATESYGQVATNHQ 585
rh10   DDEERFFPSSGVLMFGKQGA--GKDNVDYS-SVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNLQ 587
SUBS   LQGSNTYAMENTMFANPKQN--TNTATVPG-TLIF-S-S-TQPV-ATDYDMW-NLPGGD-
       PADEK S QHQLI   SESA  EASKAALE-NMLM D    RA  R   NVF TMSN L
       DDK     NN V     TPS  AK  KTY     L      A        QG I  V N
               S  I      N         EI                     E  S  S F
                  N                 Y                     R     D
       --HVR10---
AAV1   SSSTDPATGDVHAMGALPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKNPPP 645
AAV2   RGNRQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 644
AAV3-3 SSNTAPTTGTVNHQGALPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 645
AAV4-4 SNSNLPTVDRLTALGAVPGMVWQNRDIYYQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLIGGFGLKHPPP 643
AV5    SSTTAPATGTYNLQEIVPGSVWMERDVYLQGPIWAKIPETGAHFHPSPAMGGFGLKHPPP 634
AAV6   SSSTDPATGDVHVMGALPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPP 645
AAV7   AANTAAQTQVVNNQGALPGMVWQNRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP 646
AAV8   QQNTAPQIGTVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP 647
hu31   SAQAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
hu32   SAQAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
AAV9   SAQAQAQTGWVQNQGILPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGMKHPPP 645
rh10   QQNAAPIVGAVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPIWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKHPPP 647
SUBS   RNSNLPTVDRLTALEAV--S--ME--I----------E-GAH-----AI----L-N---
       ASNTA AIADYHTM V       N
       QGTRD   QT NH
        Q       V  L
                   V
                   S
                    ---HVR11--
AAV1   QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEVQYTSNY 705
AAV2   QILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 704
AAV3-3 QIMIKNTPVPANPPTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 705
AAV4-4 QIFIKNTPVPANPATTFSSTPVNSFITQYSTGQVSVQIDWEIQKERSKRWNPEVQFTSNY 703
AV5    MMLIKNTPVPGNI-TSFSDVPVSSFITQYSTGQVTVEMEWELKKENSKRWNPEIQYTNNY 693
AAV6   QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEVQYTSNY 705
AAV7   QILIKNTPVPANPPEVFTPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNF 706
AAV8   QILIKNTPVPADPPTTFNQSKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 707
hu31   QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 705
hu32   QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 705
AAV9   QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 705
rh10   QILIKNTPVPADPPTTFSQAKLASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNY 707
SUBS   MMM-------G-IAAE-SDVPVS-------------QMD--IK--R-------V------
         F           SET TAA FA
                       S  PT
                       V  QS
                          S
```

ФИГ. 21 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

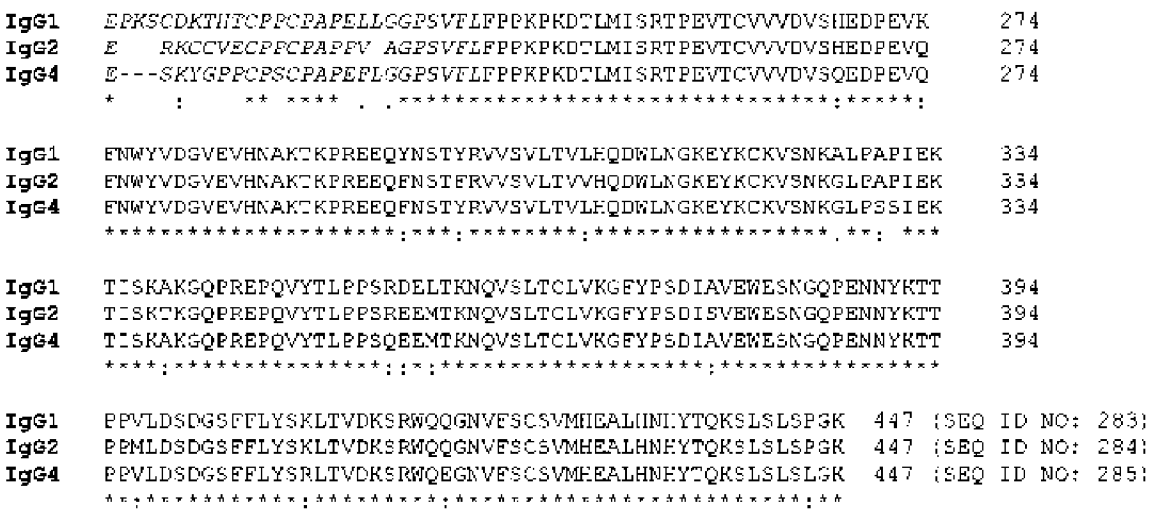
```
       -----HVR12-----
AAV1   AKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL 736 (SEQ ID NO: 274)
AAV2   NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL 735 (SEQ ID NO: 275)
AAV3-3 NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736 (SEQ ID NO: 276)
AAV4-4 GQQNSLLWAPDAAGKYTEPRAIGTRYLTHHL 734 (SEQ ID NO: 277)
AV5    NDPQFVDFAPDSTGEYRTTRPIGTRYLTRPL 724 (SEQ ID NO: 278)
AAV6   AKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL 736 (SEQ ID NO: 279)
AAV7   EKQTGVDFAVDSQGVYSEPRPIGTRYLTRNL 737 (SEQ ID NO: 280)
AAV8   YKSTSVDFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 738 (SEQ ID NO: 143)
hu31   YKSNNVEFAVSTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736 (SEQ ID NO: 281)
hu32   YKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736 (SEQ ID NO: 282)
AAV9   YKSNNVEFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL 736 (SEQ ID NO: 144)
rh10   YKSTNVDFAVNTDGTYSEPRPIGTRYLTRNL 738 (SEQ ID NO: 145)
SUBS   GQQVSLLWTPDAA-K-RTT-A-------HP-
       NDPQF D   SSN E T           H
       A  TG      NQ L
       E  A        T
```

ФИГ. 22



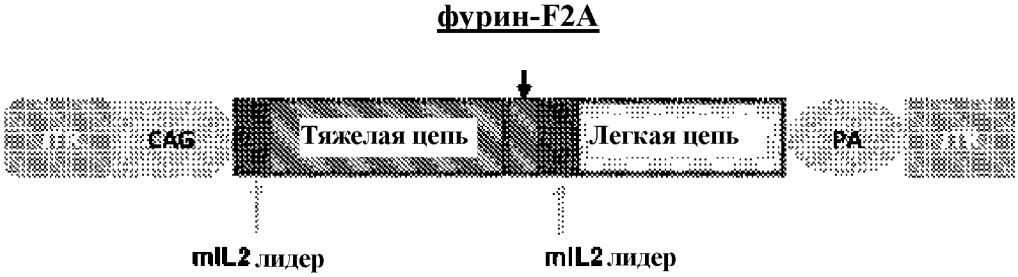
галактоза ○
манноза ⊗
фукоза ◀
N-ацетилглюкозамин ■
α(2,3)-связанная N-ацетилнейраминовая кислота ◆
α(2,6)-связанная N-ацетилнейраминовая кислота ◆

ФИГ. 23

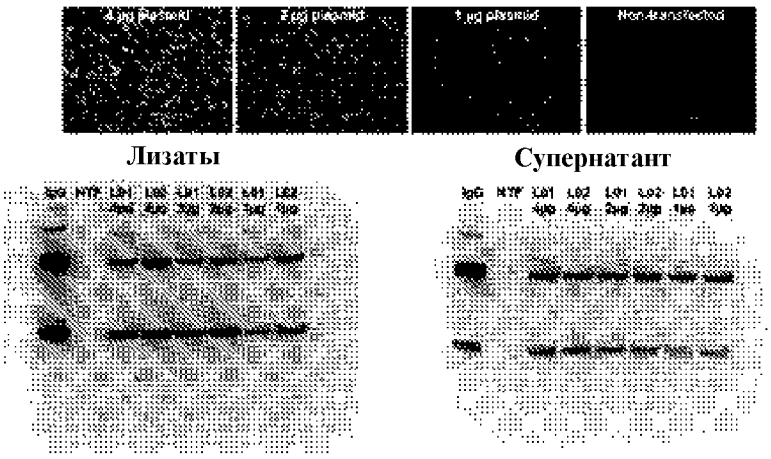

IgG1 EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK 274
IgG2 E RKCCVECPPCPAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ 274
IgG4 E---SKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ 274
IgG1 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK 334
IgG2 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK 334
IgG4 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK 334
IgG1 TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT 394
IgG2 TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTT 394
IgG4 TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT 394
IgG1 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447 (SEQ ID NO: 283)
IgG2 PPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447 (SEQ ID NO: 284)
IgG4 PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK 447 (SEQ ID NO: 285)

ФИГ. 24A-D

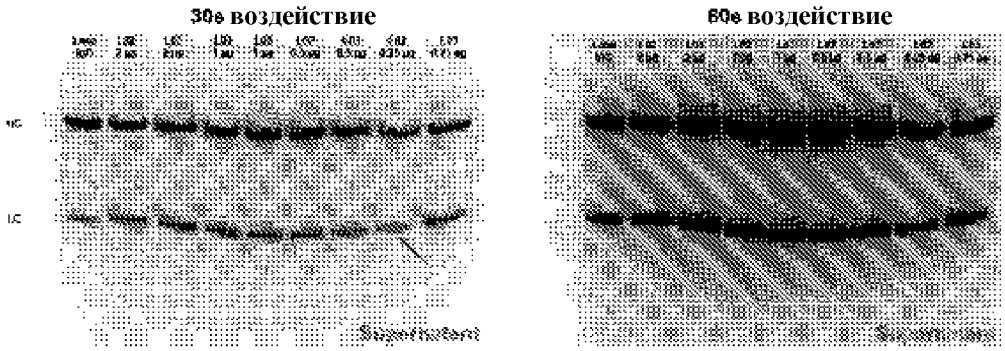
ФИГ. 24A



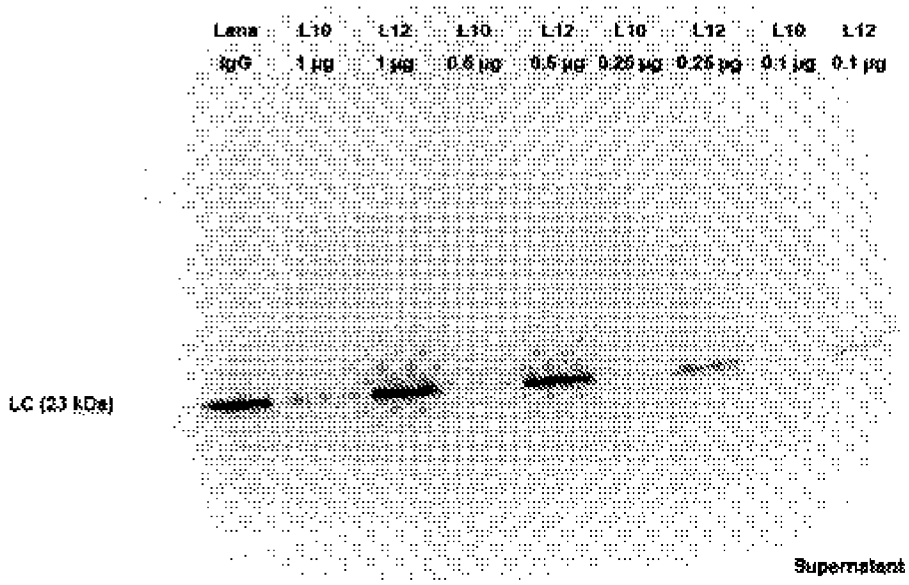
ФИГ. 24B



ФИГ. 24C



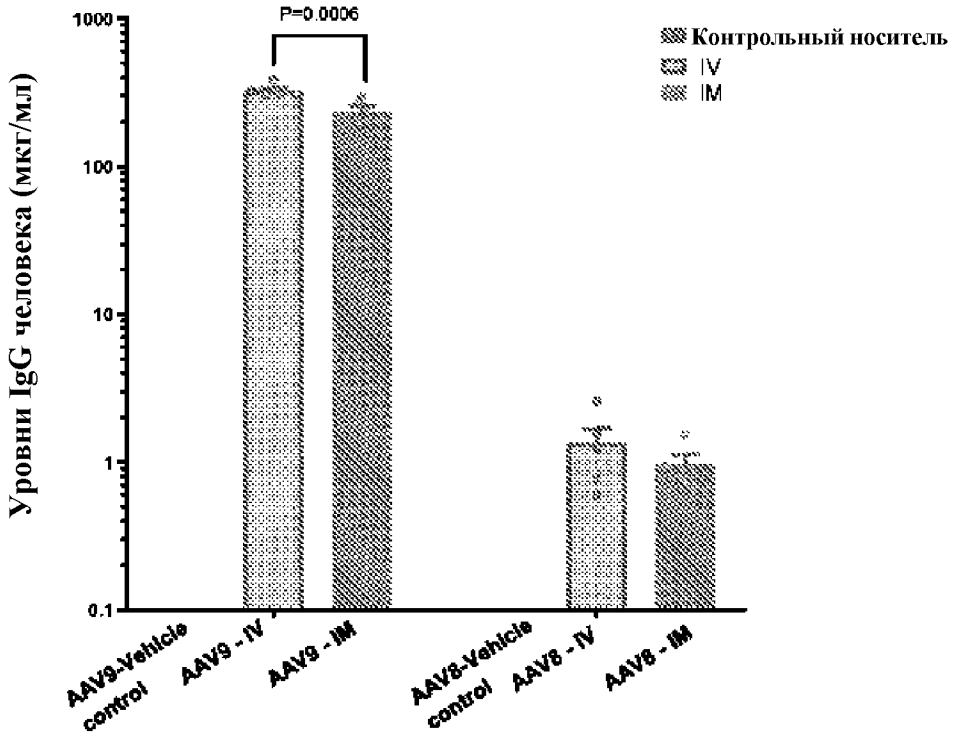
ФИГ. 24D



µg – мкг
kDa - кДа

ФИГ. 25

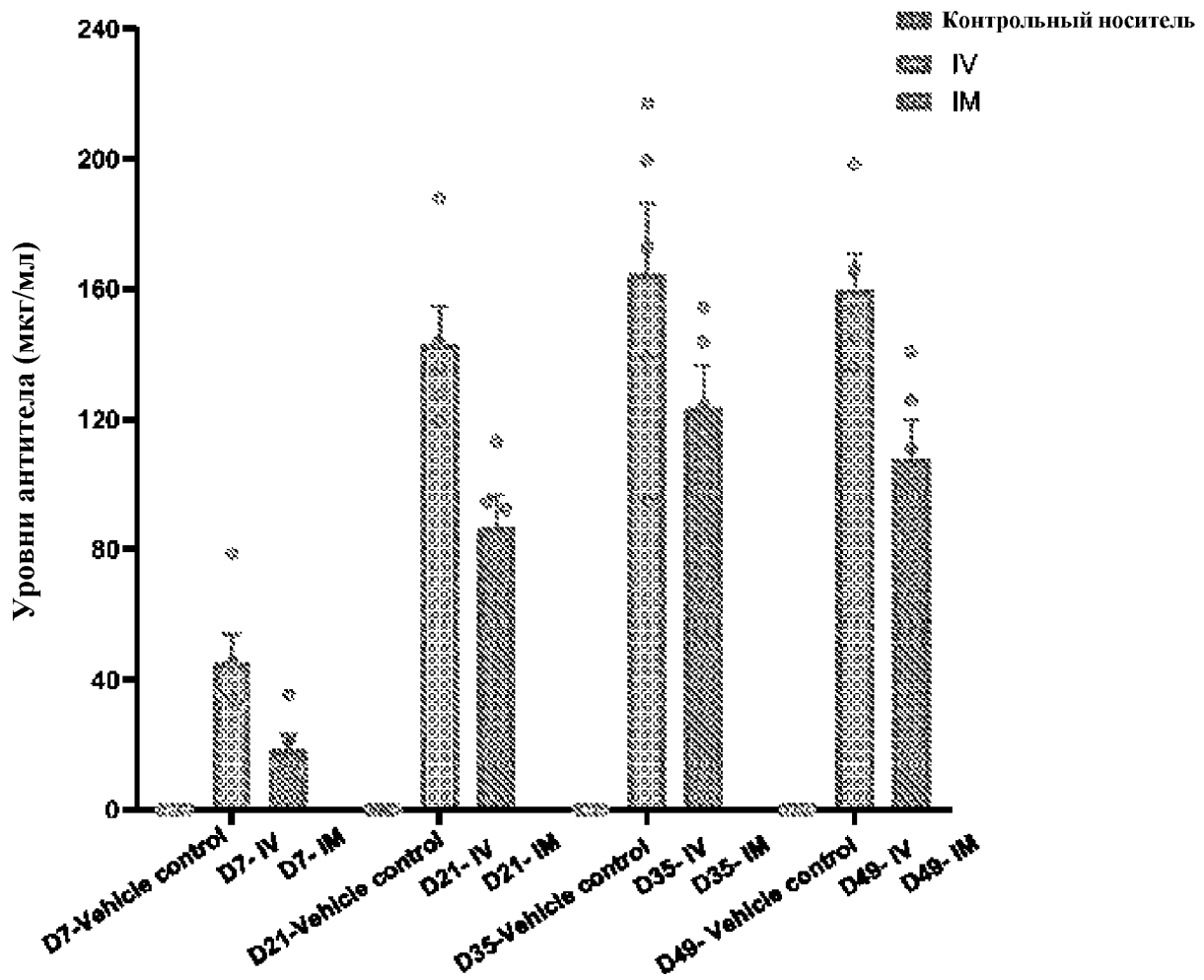
Уровани IgG человека (мкг/мл) в сыворотке мышей NSG (через 7 недель после инъекции)



Vehicle control – Контрольный носитель

ФИГ. 26

Уровни антитела (ланаделумаб) (мкг/мл) в сыворотке мышей NSG после инъекции (AAV9)



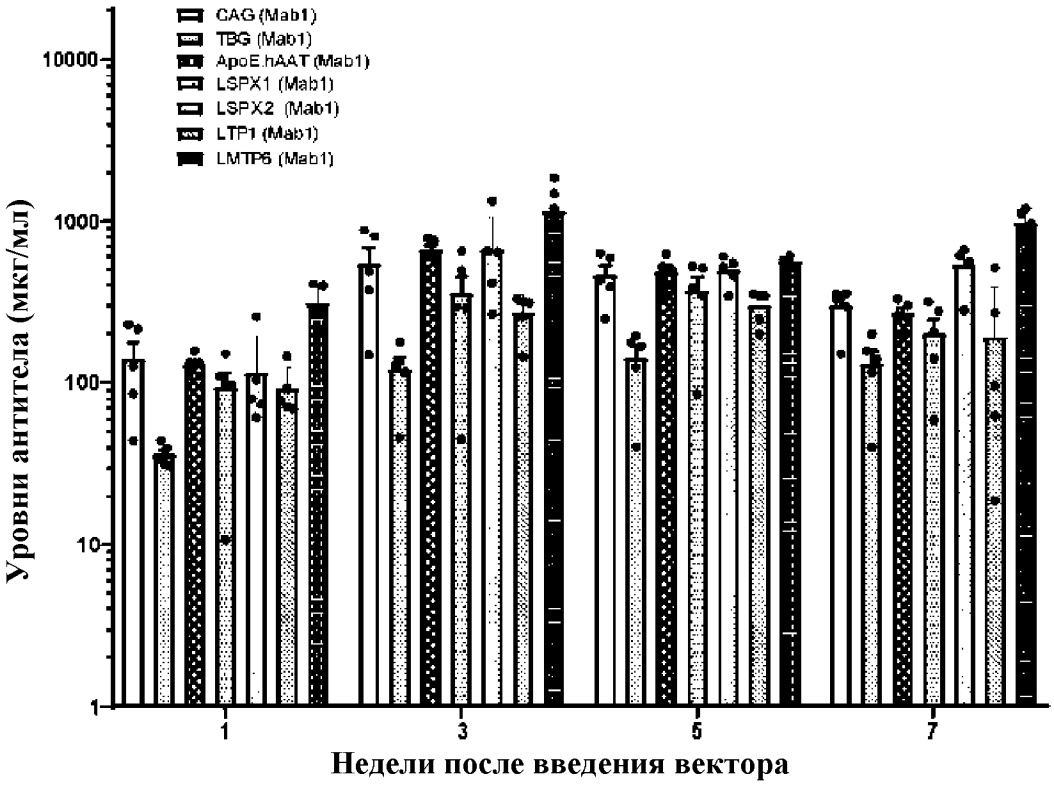
Vehicle control – Контрольный носитель

ФИГ. 27

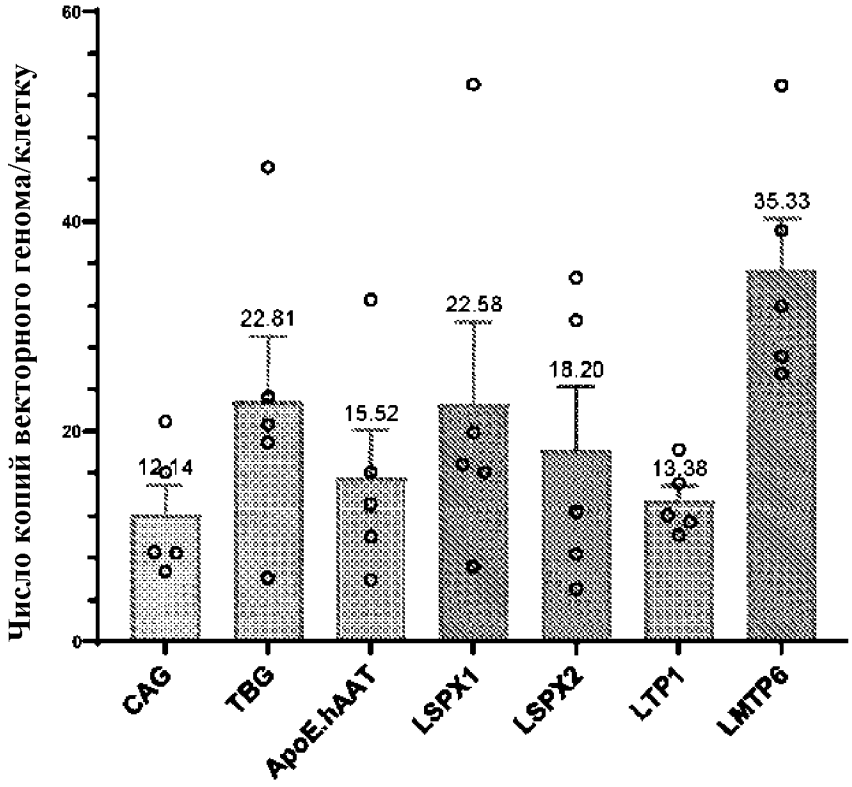


ФИГ. 28А

Экспрессия антитела в сыворотке мышей C57BL/6



ФИГ. 28B


Число копий векторного генома/клетку
60
40
20
0
12.14
22.81
15.52
22.58
18.20
13.38
35.33
CAG
TBG
ApoE.hAAT
LSPX1
LSPX2
LTP1
LMTP6

ФИГ. 29А Конструкция Fab IgG1 бенрализумаба:

Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь бенрализумаба (SEQ ID NO: 364):
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVIHWVRQRPGQGLAWMGYINPYNDGTKY
NERFKGKVTITSDRSTSTVYMELSSLRS*EDTAVYLCGREGIRYYGLLGDYWG*QGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV*EPKSCD +/- KTHT (or*
KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь бенрализумаба (SEQ ID NO: 365):
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGTSEDIINYLNWYQQKPGKAPKLLIYHTSRLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQP*EDFATYYCQQGYTLPYTFG*QGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 250)
QGT – Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
Or
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 29B Конструкция Fab IgG4 реслизумаба:

Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь реслизумаба (SEQ ID NO: 366):
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGLSLTSNSVNWIRQAPGKGLEWVGLIWSNGDTDYN
SAIKSRFTISRDTSKSTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYYGYFDYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY+/- GPPCPPCPA (or GPPCP
SCPA) +/- PEFLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь бенрализумаба (SEQ ID NO: 367):
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCLASEGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGANSLQTGVPS
RFSGSGSATDYTLTISSLQPEDFATYYCQQSYKFPNTFGQGTKVEVKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ESKYGPPCPPCPAPEFLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 214)
Or
ESKYGPPCPSCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 215)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 29С Конструкция Fab IgG4 тралокинумаба:

Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь тралокинумаба (SEQ ID NO: 368):
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGLSWVRQAPGQGLEWMGWISANNGDTN
YGQEFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDSSSSWARWFFDLWGRGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY+/- GPPCPPCP
A (or GPPCPSCPA) +/- PEFLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь тралокинумаба (SEQ ID NO: 369):
SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNIIGSKLVHWYQQKPGQAPVLVIYDDGDRPSGIPER
FSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDTGSDPVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLF
PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
DDTAVYY –Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 273)
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ESKYGPPCPPCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 214)
Or
ESKYGPPCPSCPAPEFLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 215)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DEADYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 255)
(S/T)XN –Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 29D Конструкция Fab IgG2 немолизумаба:

Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь немолизумаба (SEQ ID NO: 370):
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYIMNWVRQAPGQGLEWMGLINPYNGGTDY
NPQFQDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGYDDGPYTLETWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVE +/- CPPCPA +/- P
FVAG
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь немолизумаба (SEQ ID NO: 371):
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDIYSFVAWYQQKPGKAPKLLIYNAQTEAQGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYDSPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT = Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN =Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ERKSCVECPPCPAPPVAG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 433)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 29E Конструкция Fab IgG1 омализумаба:

Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь омализумаба SEQ ID NO: 372):
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSGYSWNWIRQAPGKGLEWVASITYDGSTNY
ADSVKGRFTISRDDSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSHYFGHWHFAVWGQGTLVTVS
SGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCD +/- KTHT (or
KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь омализумаба SEQ ID NO: 373):
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASYLES
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHEDPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 194)
Or
EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG – Шарнирная область (SEQ ID NO: 195)

Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
EDFATYY = Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 242)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN – Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

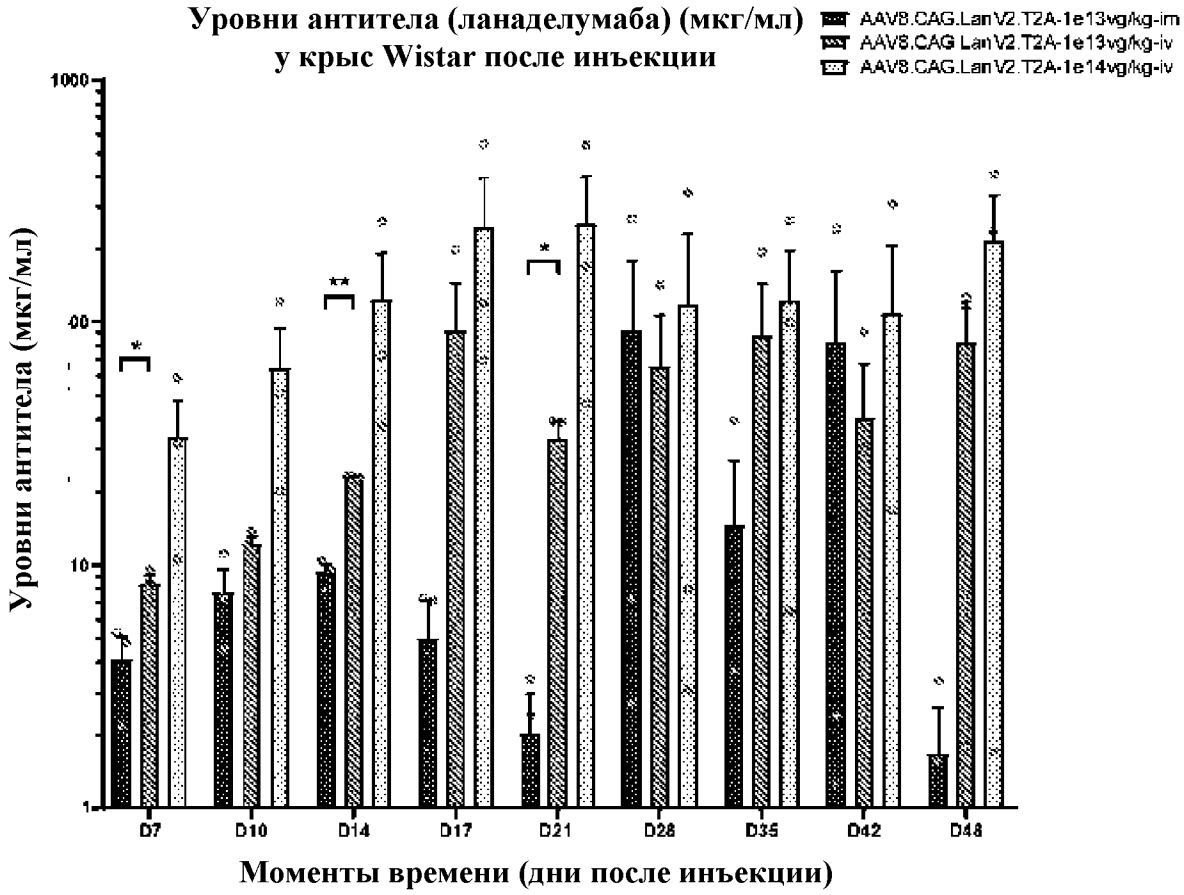
ФИГ. 29F Конструкция Fab IgG2 тезепелумаба:

Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Тяжелая цепь тезепелумаба (SEQ ID NO: 374):
QMQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFRTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKHY
ADSVKGRFTITRDNSKNTLNLQMNSLRAEDTAVYYCARAPQWELVHEAFDIWGQGTMVTV
SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVE +/- CPPCPA +/- P
PVAG
Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLLTCGDVEENPGP or APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)
SEQ ID NO: 222, 227, 230; полноразмерные последовательности раскрыты как SEQ ID NO: 231 и 429, соответственно
Лидер (SEQ ID NO: 146):
MYRMQLLLLIALSLALVTNS
Легкая цепь тезепелумаба (SEQ ID NO: 375):
SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSWIPER
FSGSNSGNTATLTISRGEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLF
PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Перечень условных обозначений тяжелой цепи:
CDR подчеркнуты
EDTAVYY – Сайт Y-сульфатирования (SEO ID NO: 236)
QGT= Сайт гликозилирования (Q) по глутамину
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)
ERKCCVECPPCPAPPVAG –Шарнирная область (SEQ ID NO: 220)

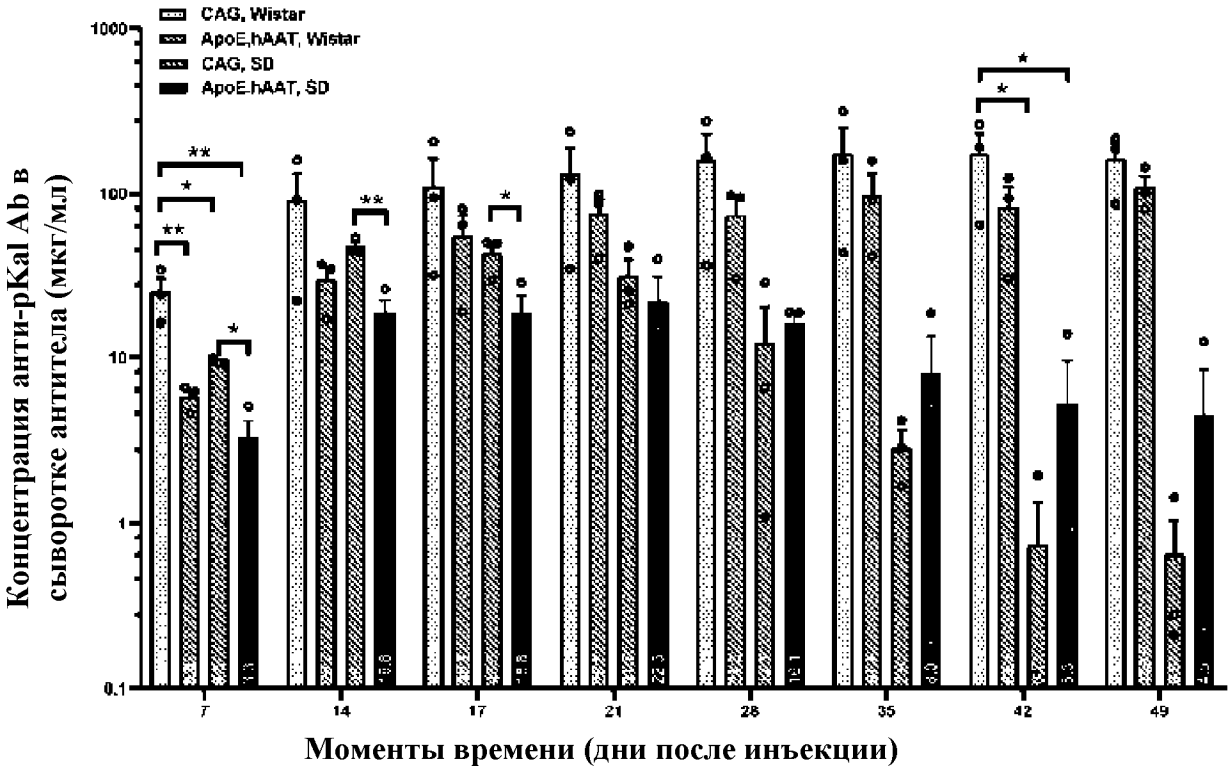
Перечень условных обозначений легкой цепи:
CDR подчеркнуты
DEADYY – Сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 255)
(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

ФИГ. 30А

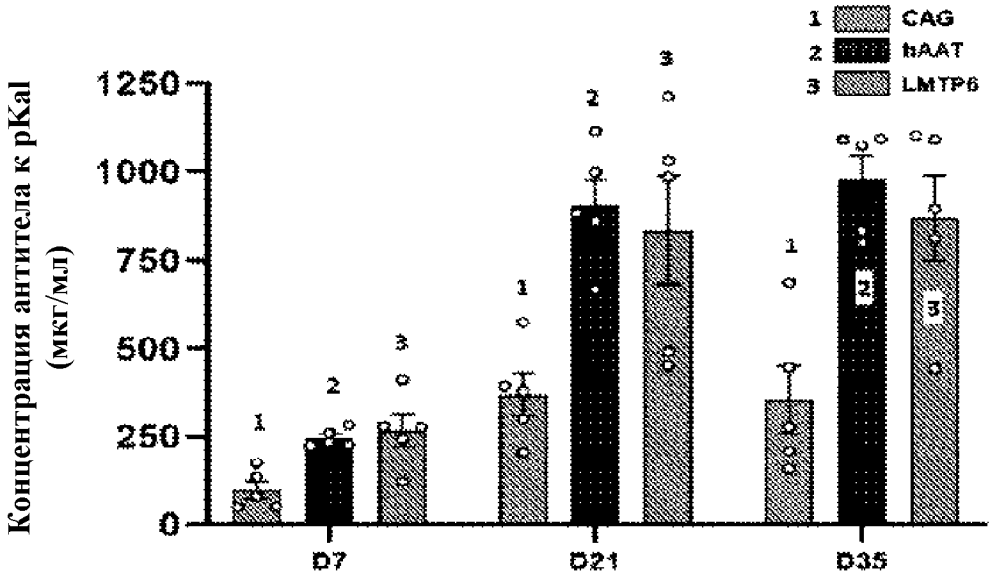


vg/kg – гв/кг

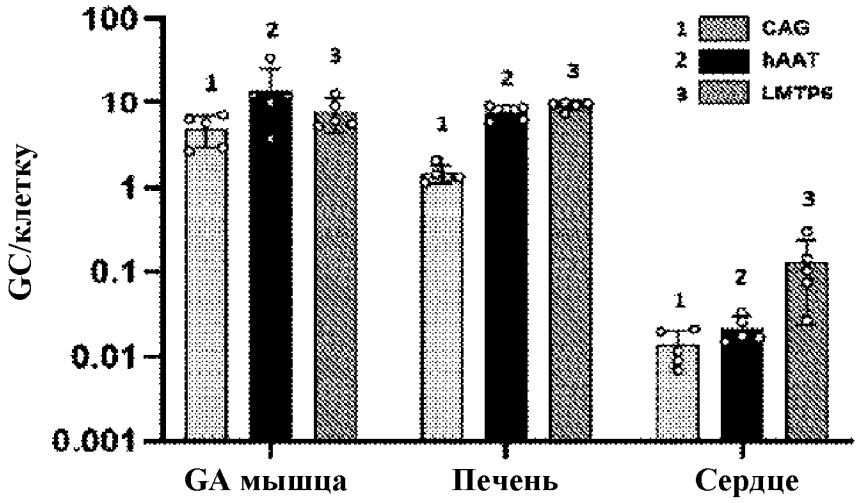
ФИГ. 30В


CAG, Wistar
ApoE,hAAT, Wistar
CAG, SD
ApoE.hAAT, SD
1000
100
10
1
0,1
Концентрация анти-pKal Ab в сыворотке антитела (мкг/мл)
7
14
17
21
28
35
42
49
Моменты времени (дни после инъекции)

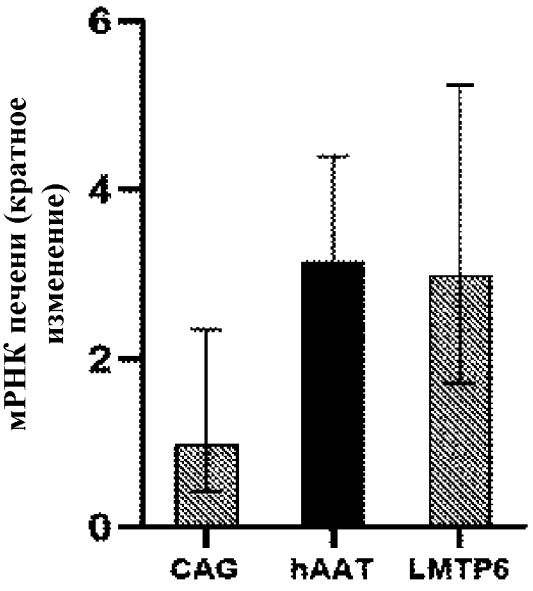
ФИГ. 31А


Концентрация антитела к рКаl (мкг/мл)
1250
1000
750
500
250
0
D7
D21
D35
1 CAG
2 hAAT
3 LMTP6

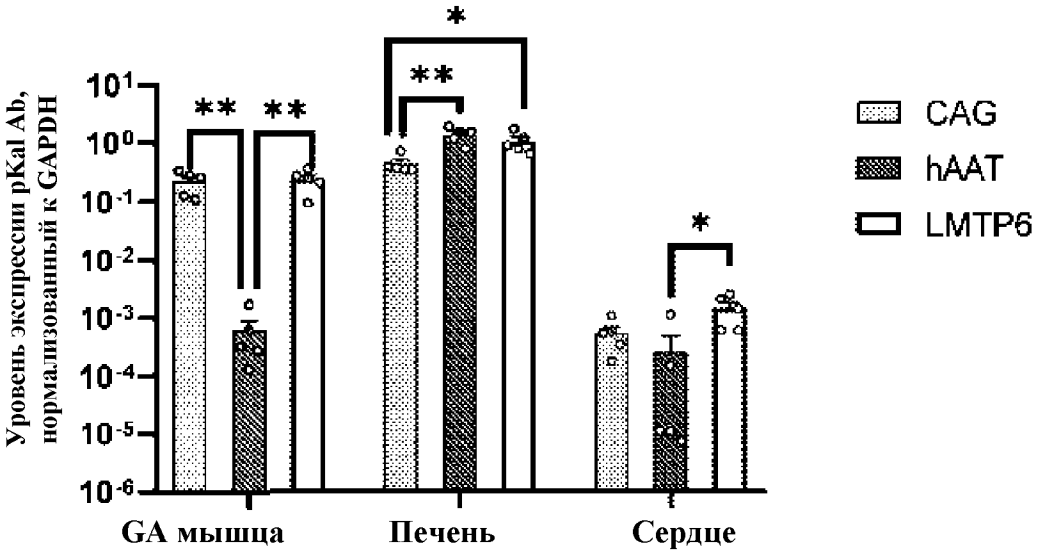
ФИГ. 31B


100
10
1
0.1
0.01
0.001
GC/клетку
1
2
3
CAG
hAAT
LMTP8
GA мышца
Печень
Сердце

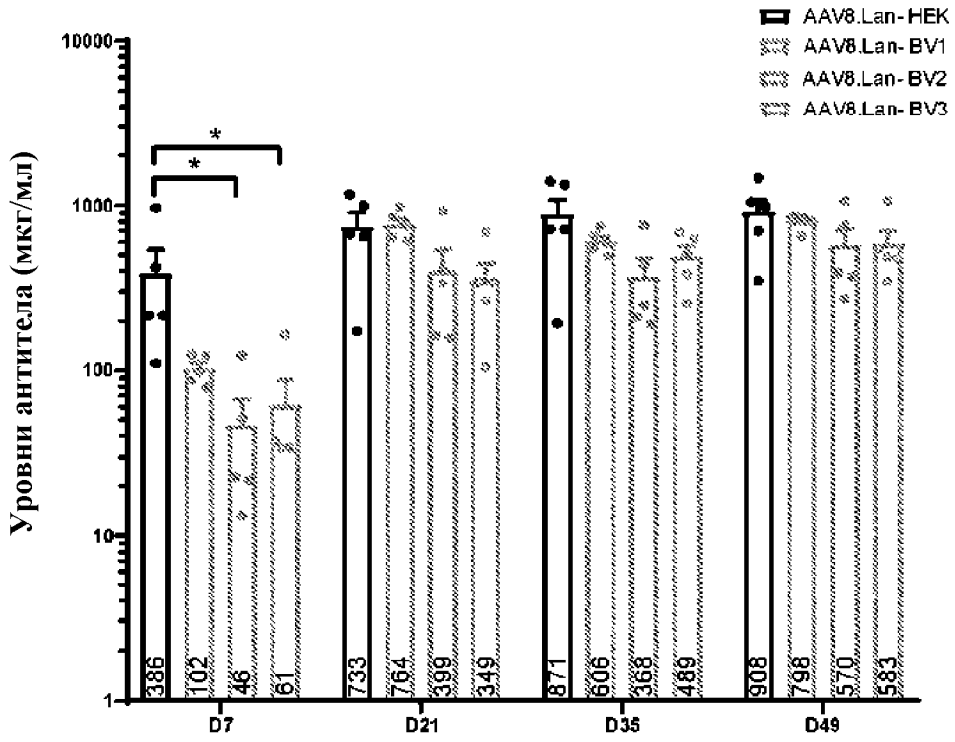
ФИГ. 31C



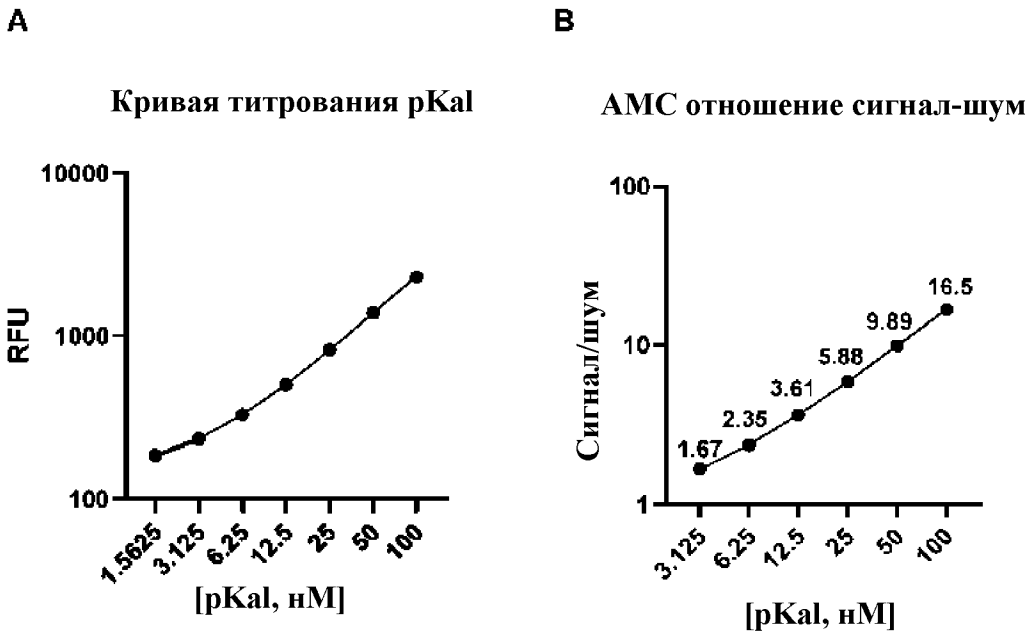
ФИГ. 31D


Уровень экспрессии pKal Ab, нормализованный к GAPDH
10^{1}
10^{0}
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
10^{-4}
10^{-5}
10^{-6}
**
**
*
**
*
GA мышца
Печень
Сердце
CAG
hAAT
LMTP6

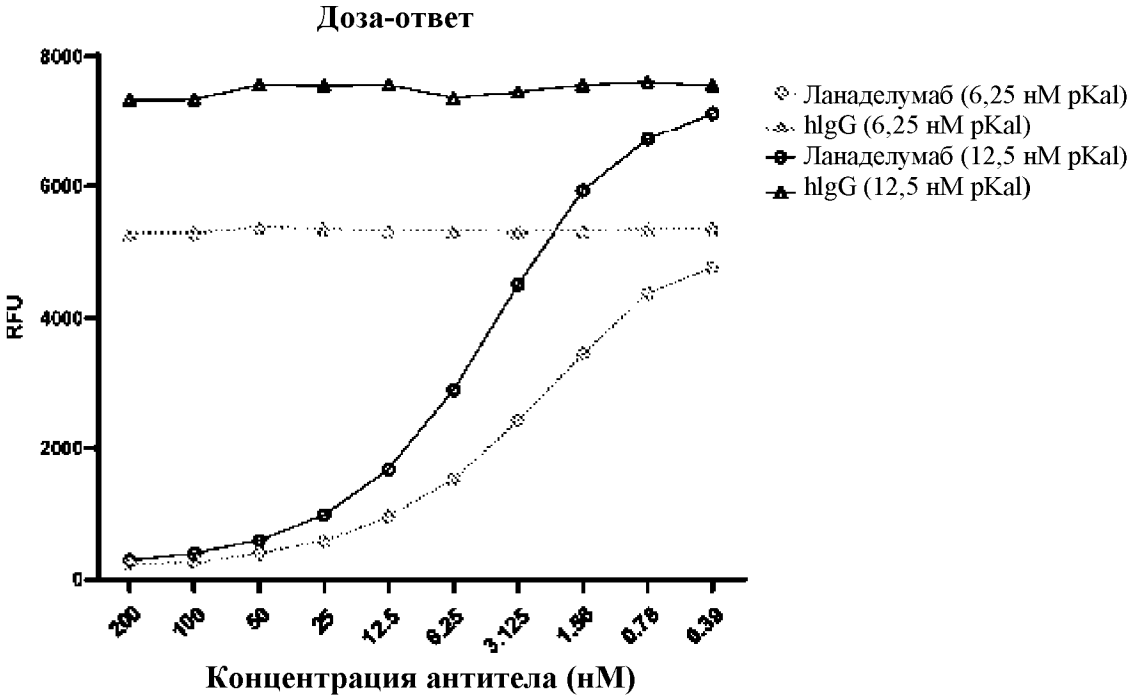
ФИГ. 32


AAV8.Lan-HEK
AAV8.Lan-BV1
AAV8.Lan-BV2
AAV8.Lan-BV3
Уровни антитела (мкг/мл)
10000
1000
100
10
1
*
*
386
102
46
61
733
764
399
349
871
606
368
489
908
798
570
583
D7
D21
D35
D49

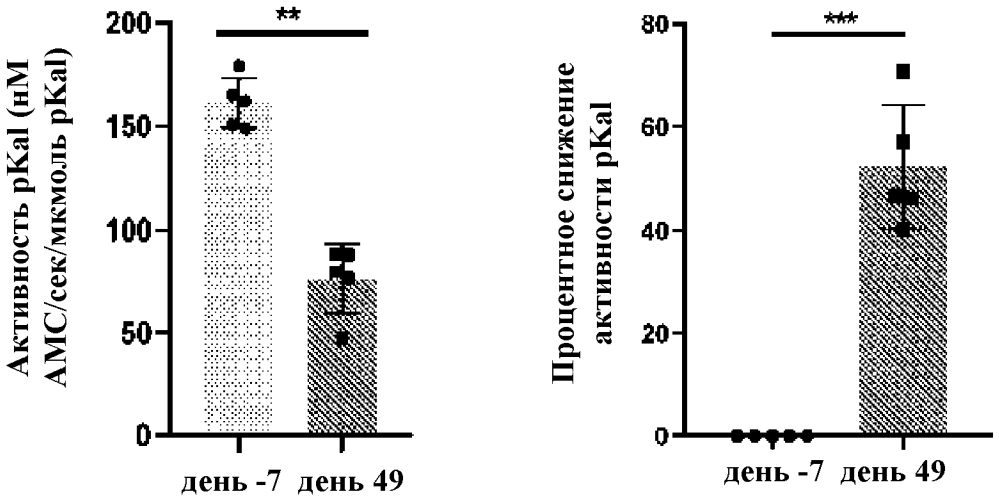
ФИГ. 33A/B


A
Кривая титрования pKal
RFU
10000
1000
100
1.5625
3.125
6.25
12.5
25
50
100
[pKal, нМ]
B
AMC отношение сигнал-шум
Сигнал/шум
100
10
1
1.67
2.35
3.61
5.88
9.89
16.5
3.125
6.25
12.5
25
50
100
[pKal, нМ]

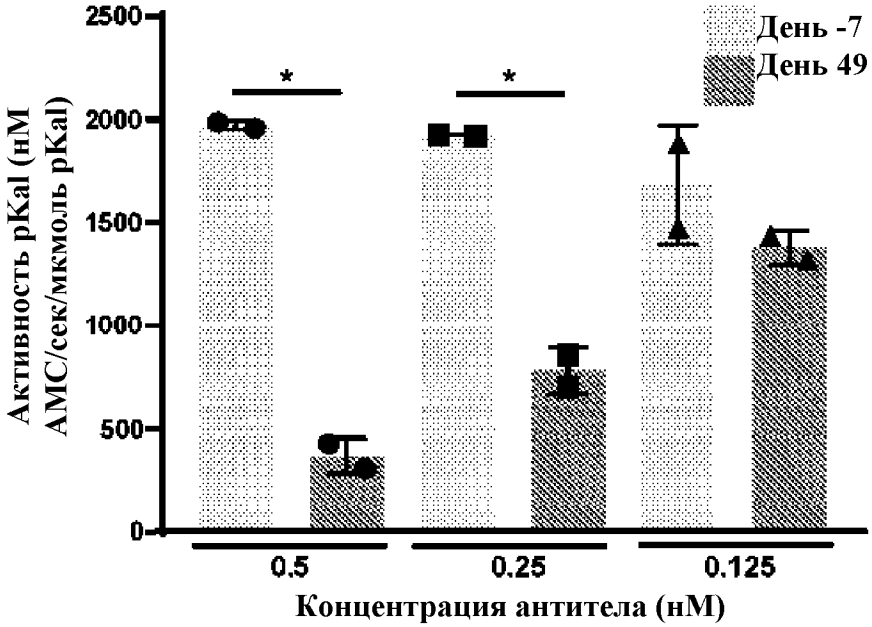
ФИГ. 33C


Доза-ответ
RFU
8000
6000
4000
2000
0
200
100
50
25
12.5
6.25
3.125
1.56
0.78
0.39
Концентрация антитела (нМ)
Ланаделумаб (6,25 нМ pKal)
hIgG (6,25 нМ pKal)
Ланаделумаб (12,5 нМ pKal)
hIgG (12,5 нМ pKal)

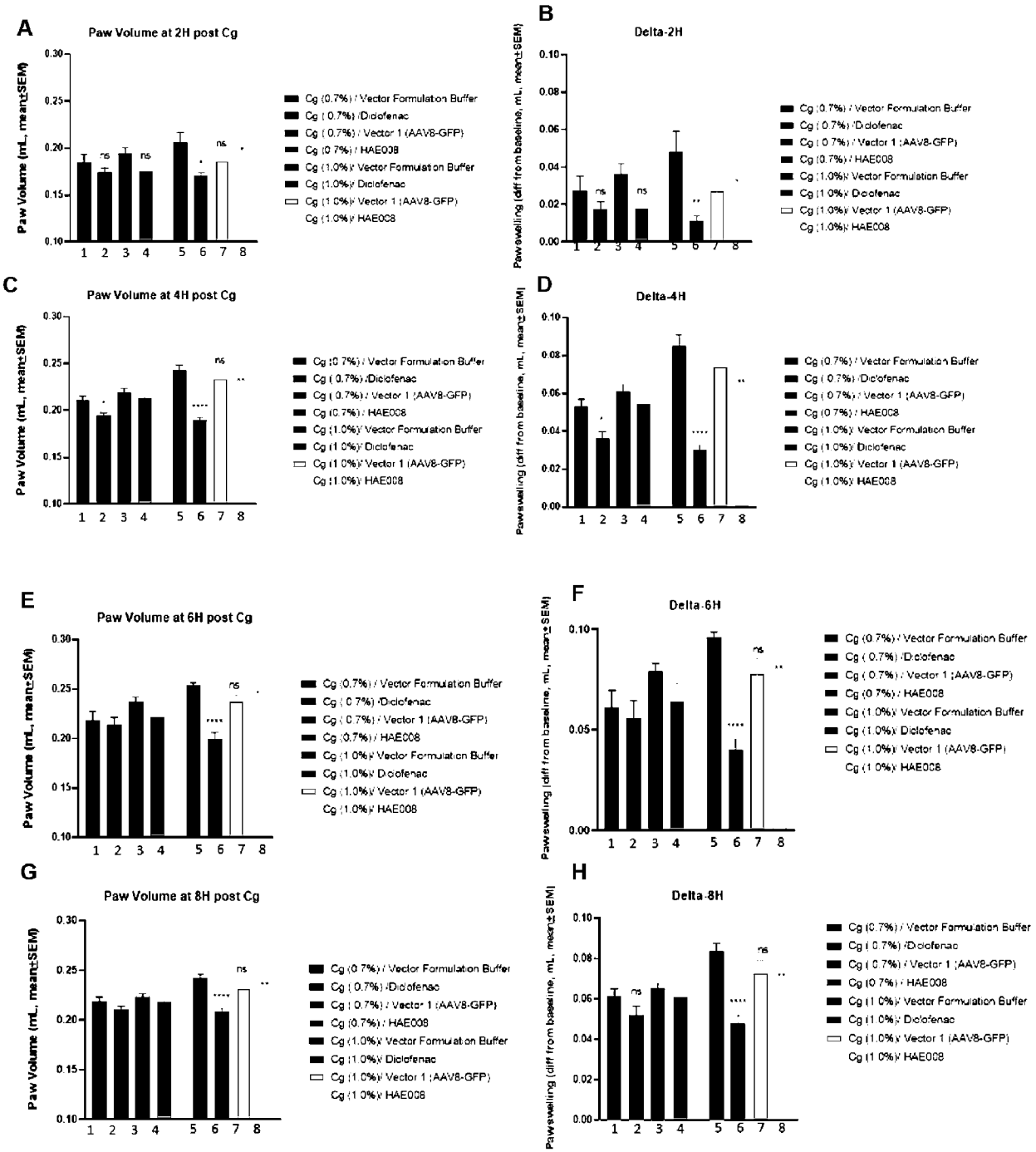
ФИГ. 33D/E


Активность pKal (нМ АМС/сек/мкмоль pKal)
200
150
100
50
0
**
день -7
день 49
Процентное снижение активности pKal
80
60
40
20
0
***
день -7
день 49

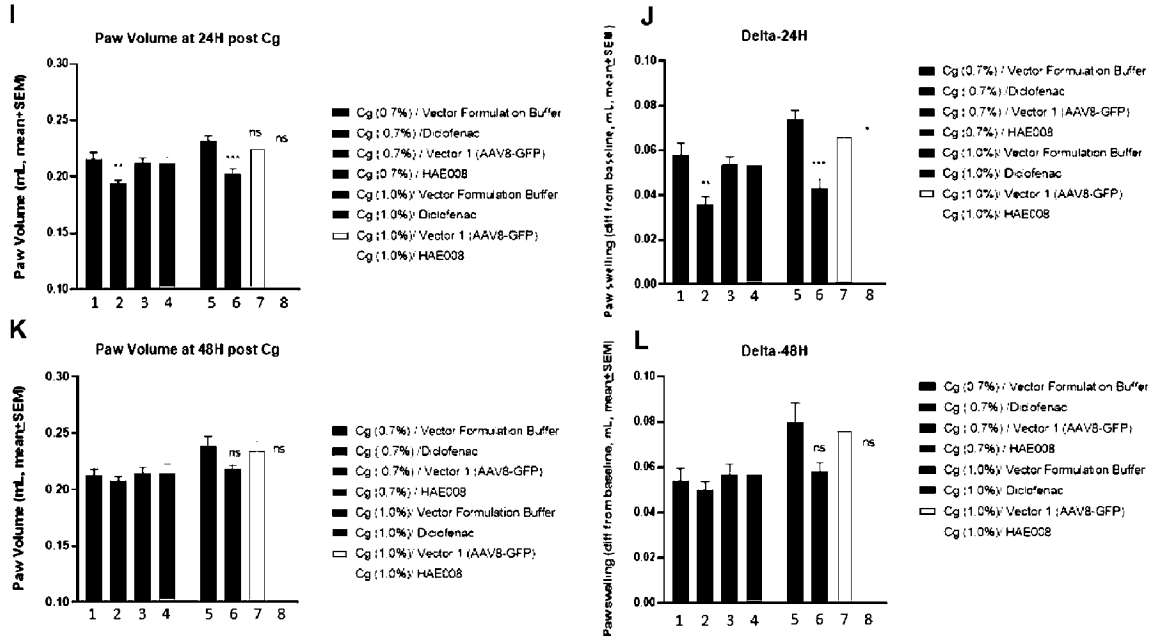
ФИГ. 33F


2500
2000
1500
1000
500
0
Активность pKal (нМ
АМС/сек/мкмоль pKal)
*
*
День -7
День 49
0.5
0.25
0.125
Концентрация антитела (нМ)

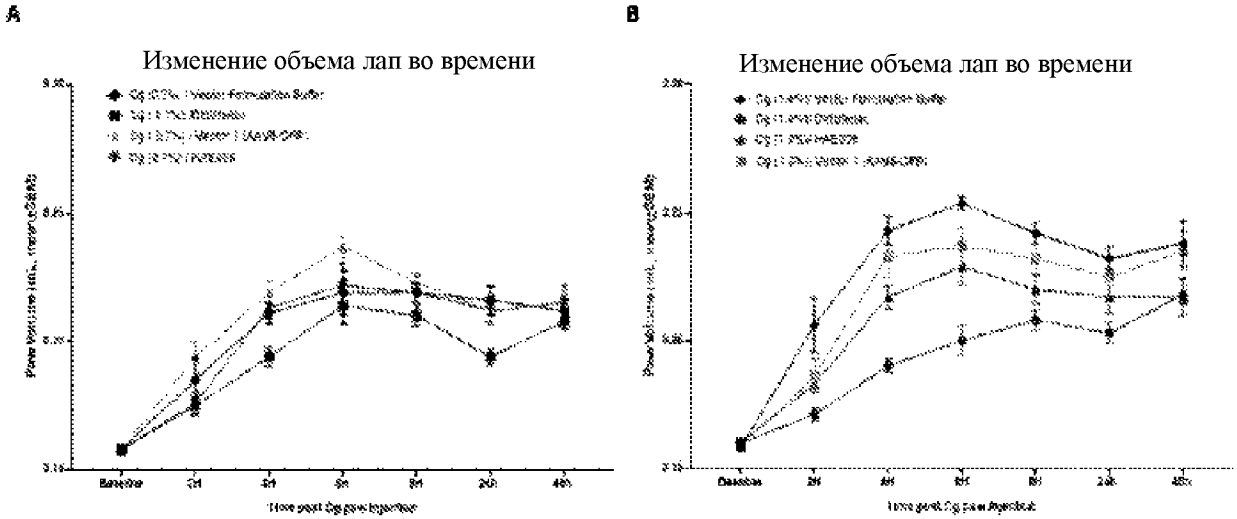
ФИГ. 33A-L


A
Paw Volume at 2H post Cg
Paw Volume (mL, mean±SEM)
B
Delta-2H
Pawswelling (diff from baseline, mL, mean±SEM)
C
Paw Volume at 4H post Cg
D
Delta-4H
E
Paw Volume at 6H post Cg
F
Delta-6H
G
Paw Volume at 8H post Cg
H
Delta-8H
Cg (0.7%) / Vector Formulation Buffer
Cg (0.7%) /Diclofenac
Cg (0.7%) / Vector 1 (AAV8-GFP)
Cg (0.7%) / HAE008
Cg (1.0%)/ Vector Formulation Buffer
Cg (1.0%)/ Diclofenac
Cg (1.0%)/ Vector 1 (AAV8-GFP)
Cg (1.0%)/ HAE008

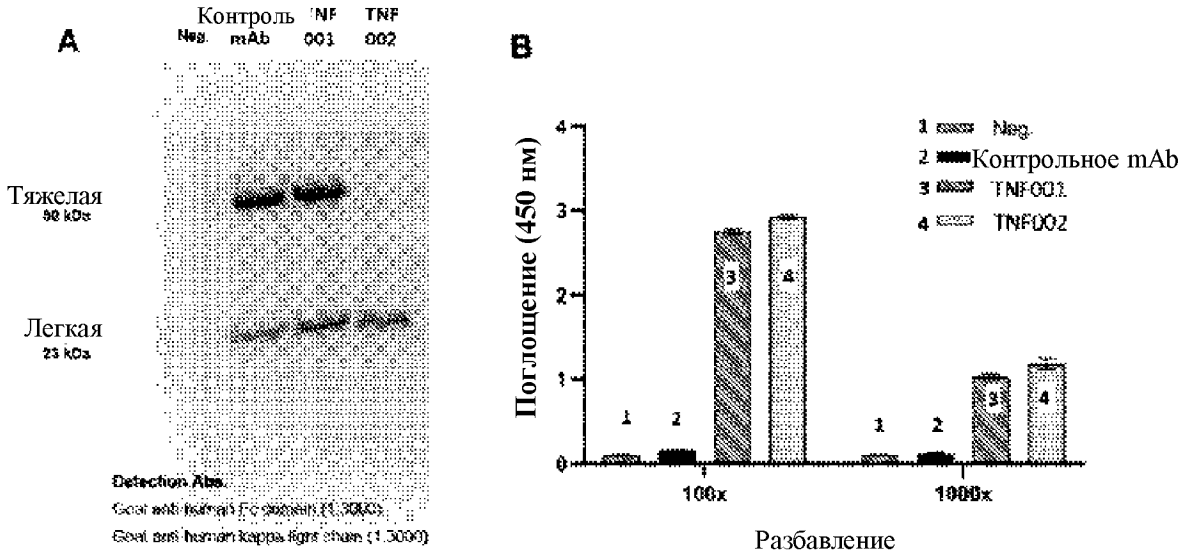
ФИГ. 34


I
Paw Volume at 24H post Cg
Paw Volume (mL, mean+SEM)
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
1 2 3 4 5 6 7 8
ns
ns
Cg (0.7%) / Vector Formulation Buffer
Cg (0.7%) /Diclofenac
Cg (0.7%) / Vector 1 (AAV8-GFP)
Cg (0.7%) / HAE008
Cg (1.0%) Vector Formulation Buffer
Cg (1.0%) Diclofenac
Cg (1.0%) Vector 1 (AAV8-GFP)
Cg (1.0%) HAE008
J
Delta-24H
Paw swelling (diff from baseline, mL, mean+SEM)
0.10
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
1 2 3 4 5 6 7 8
K
Paw Volume at 48H post Cg
Paw Volume (mL, mean+SEM)
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
1 2 3 4 5 6 7 8
ns
ns
L
Delta-48H
Pawswelling (diff from baseline, mL, mean+SEM)
0.10
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
1 2 3 4 5 6 7 8
ns
ns

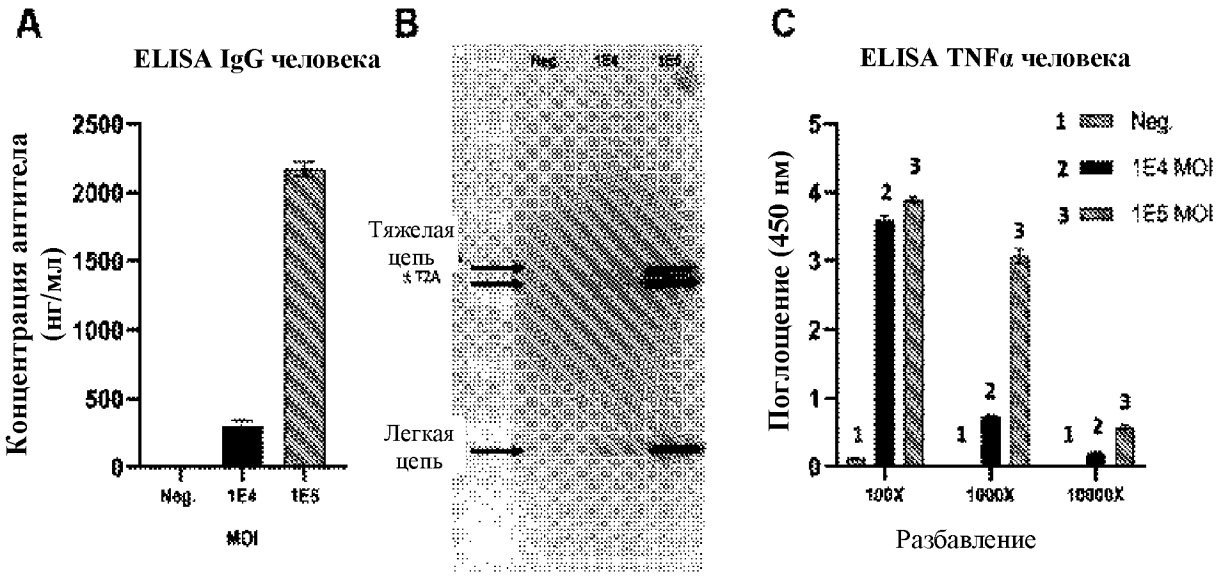
ФИГ. 35A/B


A
Изменение объема лап во времени
B
Изменение объема лап во времени

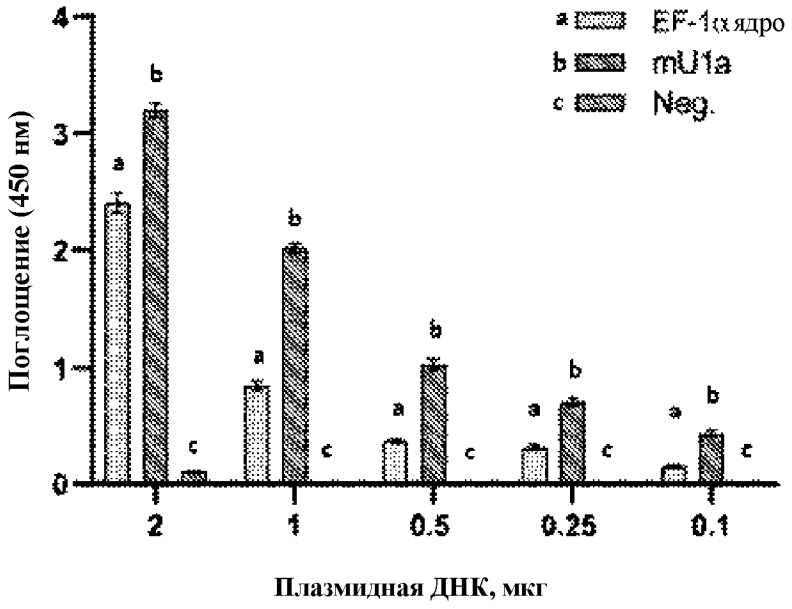
ФИГ. 36A/B


A
Контроль
Neg.
mAb
TNF
001
TNF
002
Тяжелая
90 kDa
Легкая
23 kDa
Detection Abs.
B
Поглощение (450 нм)
1 Neg.
2 Контрольное mAb
3 TNF001
4 TNF002
100x
1000x
Разбавление

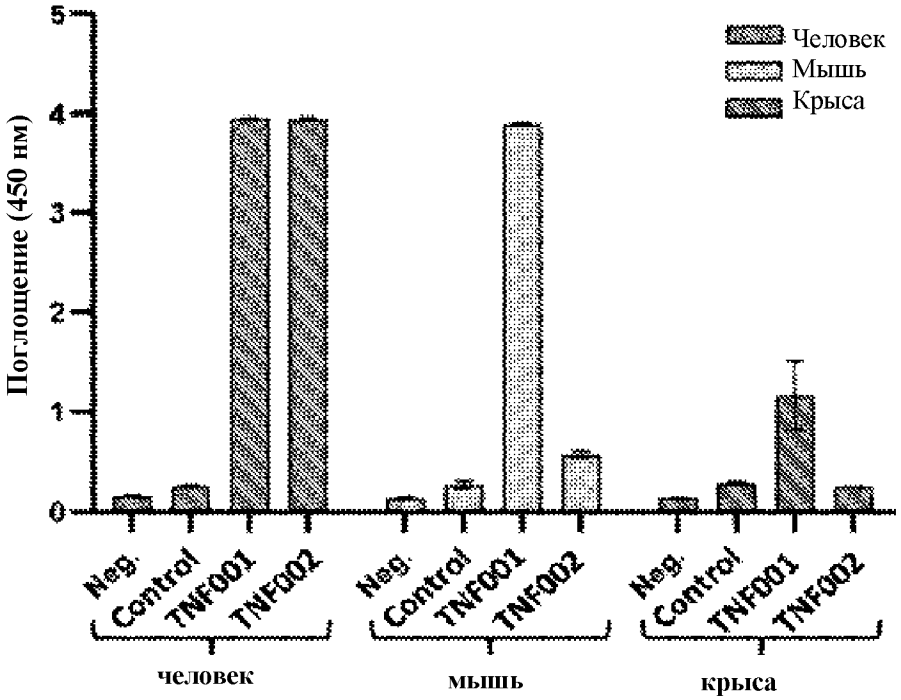
ФИГ. 37A-C


A
ELISA IgG человека
Концентрация антитела (нг/мл)
2500
2000
1500
1000
500
0
Neg.
1E4
1E5
MOI
B
Neg.
1E4
1E5
Тяжелая цепь
Легкая цепь
C
ELISA TNFα человека
Поглощение (450 нм)
5
4
3
2
1
0
1 Neg.
2 1E4 MOI
3 1E5 MOI
100X
1000X
10000X
Разбавление

ФИГ. 38


a EF-1α ядро
b mU1a
c Neg.
Поглощение (450 нм)
0
1
2
3
4
2
1
0.5
0.25
0.1
Плазмидная ДНК, мкг

ФИГ. 39



Control - контроль